Aus dem Physiologischen Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. R. Jacob
Lehrstuhl II: Professor Dr. med. R. Jacob

Enzymatische Untersuchungen zum Energiestoffwechsel des linken Rattenventrikels bei chronischer und intermittierender hämodynamischer Belastung

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
ULRICH HELMUT KÖHLER
aus Stuttgart

1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543903_0012

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. R. Jacob
Lehrstuhl II: Professor Dr. med. R. Jacob

Enzymatische Untersuchungen zum Energiestoffwechsel des linken Rattenventrikels bei chronischer und intermittierender hämodynamischer Belastung

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
ULRICH HELMUT KÖHLER
aus Stuttgart

1983

Dekan: Professor Dr. med. G. Fichtner
1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. phil. nat. I. Medugorac
2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. habil. H. Liebich

Druck: Zeeb-Druck, Tübingen 7 (Hagelloch)

INHALTSVERZEICHNIS

1.	Einleitung	1
1.1	Die Problemstellung	2
1.2	Übersicht über morphologische und funktionelle Befunde am Goldblatt-II- und am Schwimmrattenmodell	5
1.3	Kurzcharakterisierung der untersuchten Enzyme	8
1.3.1	Citratsynthase	8
1.3.2	Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase	8
1.3.3	Hexokinase	9
1.3.4	Lactatdehydrogenase	10
1.3.5	Succinatdehydrogenase	11
1.3.6	Myofibrillar-Adenosintriphosphatase	12
2.	Material und Methoden	13
2.1	Untersuchungsmaterial	14
2.1.1	Versuchstiere	14
2.1.1.1	Tierhaltung	14
2.1.1.2	Die einzelnen Tierkollektive	14
2.1.2	Bezugsquellennachweis für Chemikalien	17
2.2	Methoden	18
2.2.1	Analysenmaterial	18
2.2.1.1	Gewinnung des Analysenmaterials zur quantitativ-enzymatischen Analyse und zur Proteinbestimmung	18
2.2.1.2	Gewinnung des Analysenmaterials zur histochemischen Untersuchung	19
2.2.2	Quantitativ-enzymatische Analyse	20
2.2.2.1	Herstellung der Rohhomogenate	20
2.2.2.2	Allgemeines zu den Enzymaktivitätsbestimmungen	21
2.2.2.3	Bestimmung der Citratsynthase-Aktivität	21
2.2.2.4	Bestimmung der Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase-Aktivität	23
2.2.2.5	Bestimmung der Hexokinase-Aktivitäten	23

2.2.2.6	Bestimmung der Gesamtaktivitäten der Lactatdehydrogenase	24
2.2.2.7	LDH-Isoenzymanalyse	26
2.2.3	Proteinbestimmung	29
2.2.3.1	Herstellung der NaOH-Protein-Lösung	29
2.2.3.2	Ermittlung der Konzentration des löslichen Proteins im Myokard	29
2.2.4	Histochemische Untersuchungen an Schwimm- und Goldblattratten	30
2.2.4.1	Aufarbeitung des Untersuchungsmaterials	30
2.2.4.2	Nachweis der Succinat-Dehydrogenase-Aktivität	30
2.2.4.3	Nachweis der Lactatdehydrogenase-Aktivität	31
2.2.4.4	Nachweis der Myofibrillar-ATPase-Aktivität	32
2.2.4.5	Dokumentation der histochemischen Ergebnisse	33
2.2.5	Statistische Auswertung	34
3.	Ergebnisse	35
3.1	Vorbemerkungen zur Terminologie	36
3.2	Versuche an Goldblattratten	37
3.2.1	Herz- und Körpergewichte, Blutdruckwerte	37
3.2.2	Lösliches Protein im Myokard des linken Ventrikels	38
3.2.3	Enzymaktivitäten im Gewebe des linken Ventrikels	39
3.2.3.1	Citratsynthase-Aktivitäten	39
3.2.3.2	Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase-Aktivitäten	39
3.2.3.3	Hexokinase-Aktivitäten	40
3.2.3.4	Lactatdehydrogenase-Aktivitäten	41
3.2.3.5	LDH-Isoenzymverteilung	42
3.2.4	Histochemische Untersuchungen	43
3.2.4.1	Regionale Verteilung der Enzymaktivitäten im Myokard	43
3.2.4.2	Aussehen der angefärbten Herzmuskelzellen	43
3.2.4.3	Vergleich der Schnitte von GBR- und KR-Herzen	44

3.2.4.4	Anfärbung von Skelettmuskelquerschnitten auf myofibrillare ATPase-Aktivitäten	44
3.3	Versuche an Schwimmratten	45
3.3.1	Herz- und Körpergewichte	45
3.3.2	Lösliches Protein im Myokard	45
3.3.3	Enzymaktivitäten im Gewebe des linken Ventrikels	46
3.3.3.1	Citratsynthase-Aktivitäten	46
3.3.3.2	Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase-Aktivitäten	46
3.3.3.3	Hexokinase-Aktivitäten	46
3.3.3.4	Lactatdehydrogenase-Aktivitäten	47
3.3.3.5	LDH-Isoenzymverteilung	47
3.3.4	Histochemische Untersuchungen	48
3.4	Untersuchungen am Septum spontanhypertensiver Ratten	49
3.5	Versuche an Jungratten	50
3.5.1	Herz- und Körpergewichte	50
3.5.2	Lösliches Protein im Herzmuskelgewebe	50
3.5.3	Enzymaktivitäten im Myokard	51
3.5.3.1	Hexokinase-Aktivitäten	51
3.5.3.2	Lactatdehydrogenase-Aktivitäten	51
3.5.3.3	LDH-Isoenzymverteilung	52
4.	Diskussion	53
4.1	Grundlegende Vorbemerkungen	54
4.2	Anmerkungen zu den Versuchen mit Goldblattratten	56
4.2.1	Zu den Veränderungen der Körper- und Herzteilgewichte	56
4.2.2	Zur Konzentration des löslichen Proteins im Myokard	58
4.2.3	Zur Frage mitochondrialer Funktionsänderungen	59
4.2.3.1	Citratsynthase	59
4.2.3.2	Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase	62
4.2.4	Enzyme des Kohlehydratstoffwechsels	65
4.2.4.1	Hexokinase	65

UNIV. LEIDEN BIBL.

4.2.4.2	Lactatdehydrogenase	67
4.2.5	Zu den histochemischen Experimenten	73
4.3	Anmerkungen zu den Versuchen mit Schwimmratten	76
4.3.1	Zu den Veränderungen der Körper- und Herzteilgewichte	76
4.3.2	Zur Konzentration des löslichen Proteins im Myokard	79
4.3.3	Zur Frage mitochondrialer Funktionsänderungen	80
4.3.3.1	Citratsynthase	80
4.3.3.2	Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase	81
4.3.4	Enzyme des Kohlehydrat-Stoffwechsels	83
4.3.5	Zu den histochemischen Experimenten	86
4.4	Anmerkungen zu den Versuchen mit Spontanhypertensivratten	89
4.5	Anmerkungen zu den Versuchen mit Jungratten	90
4.5.1	Körper- und Herzgewichte	90
4.5.2	Lösliches Protein	90
4.5.3	Enzyme des Kohlehydratstoffwechsels	91
4.5.3.1	Hexokinase	91
4.5.3.2	Lactatdehydrogenase	92
4.6	Schlußbemerkungen	95
5.	Zusammenfassung	97
6.	Abbildungen und Tabellen	101
7.	Abkürzungsverzeichnis	135
8.	Literaturverzeichnis	137

1. EINLEITUNG

1.1 DIE PROBLEMSTELLUNG

Wird das Herz als Teil eines lebenden Organismus funktionell verstärkt belastet, so versucht es, sich durch Veränderung der eigenen Struktur oder Leistungsfähigkeit den neuen Erfordernissen anzupassen (60). Die Art und Weise, wie dies vor sich geht, wird seit geraumer Zeit von den biologisch-medizinischen Wissenschaften zu ergründen versucht. - So erwähnte schon 1836 der Londoner Internist Richard BRIGHT im ersten Band der "Guy's Hospital Reports", daß die Herzen von Patienten, die an chronischen Nierenerkrankungen verstorben waren, ungewöhnlich häufig eine Hypertrophie des linken Ventrikels aufgewiesen hätten, ohne daß Klappenfehler oder Aortenschädigungen erkennbar gewesen seien. Als Erklärung für dieses Phänomen schlug er zwei Hypothesen vor: "...either that the altered quality of the blood affords irregular and unwonted stimulus to the organ immediately; or, that it so affects the minute and capillary circulation as to render greater action necessary to force the blood through the distant sub-divisions of the vascular system." - In der Zwischenzeit hat sich herausgestellt, daß wenigstens die zweite BRIGHTsche Erklärungsmöglichkeit zutrifft: bei den meisten chronischen Nierenerkrankungen tritt eine Fehlregulation des Renin-Angiotensin-Systems auf und trägt über eine periphere Vasokonstriktion zur Entstehung eines Bluthochdrucks mit nachfolgender Linksherzhypertrophie bei (135). Auch nach einseitiger Stenosierung einer Nierenarterie, wie sie experimentell bei der Goldblatt-II-Technik verwandt wird, entwickelt sich ein Hyperreninismus (49) und mit der Zeit eine beträchtliche Massenzunahme des linken Ventrikels, wozu der hohe Blutdruck wohl entscheidend beiträgt (39).

Eine derartige Massenzunahme des Herzmuskelgewebes kann auch bei völlig anders gearteten Belastungen auftreten, u.a. bei intermittierend verstärkter körperlicher Aktivität. Abhängig vom Grad der Beanspruchung tritt eine Funktions- und eventuell auch Strukturveränderung des Herzmuskels auf (63), deren Genese aber nicht mit Hilfe der oben

erwähnten humoralen Faktoren erklärt werden kann. Dementsprechend muß vermutet werden, daß je nach Belastungsmodus auch unterschiedliche molekulare Prozesse den strukturellen und/oder funktionellen Veränderungen zugrunde liegen. Leider ist es bis heute unklar geblieben, wie denn morphologische Phänomene am belasteten Herzen - etwa die Hypertrophie als solche oder verschiedene mikroskopische und submikroskopische Veränderungen am Myokard - überhaupt zustande kommen und sich auf den Organstoffwechsel auswirken. So sind Änderungen der Mitochondrienzahl oder Alterationen ihrer Form im hämodynamisch belasteten Myokard zwar wesentliche Befunde bei der Erforschung pathogenetischer Zusammenhänge; um definitive Aussagen zu erlauben, müssen jedoch zusätzlich Angaben über die metabolische Aktivität dieser Organellen vorliegen. Auch für Funktionsveränderungen mechanischer oder elektrischer Art, wie sie von den Physiologen erforscht werden, konnten bislang nur in Einzelfällen bestimmte Vorgänge auf molekularer Ebene als (Mit-)Ursache wahrscheinlich gemacht werden (z.B. 60, 61, 93).

Wohl mitbedingt durch methodische Schwierigkeiten bei der Bestimmung von Metabolitenkonzentrationen am arbeitenden Herzmuskel hat sich in den vergangenen 20 Jahren die biochemische Herzhypertrophieforschung ganz besonders auf die Untersuchung enzymatischer Veränderungen konzentriert. Auch die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit diesem Thema, variiert es aber insofern, als besonderes Gewicht auf die an unserem Lehrstuhl häufig verwandten Hypertrophiemodelle "Goldblatt-II" und "Schwimmer" gelegt wurde. Dadurch war es möglich, die Ergebnisse der eigenen biochemischen Experimente zu den Resultaten morphologisch und funktionell orientierter Untersuchungen anderer Mitarbeiter des Lehrstuhls in Beziehung zu setzen. So wurde beispielsweise der Frage nachgegangen, ob sich gewisse funktionelle Alterationen oder strukturelle Veränderungen auf submikroskopischer Ebene, die an Mitochondrien von Herzen mit Goldblatthypertrophie beobachtet werden konnten, auch durch biochemische Unter-

suchungsergebnisse stützen lassen (s.4.2.3, S.59).

Am Rande konnten zudem noch zwei weitere Belastungsmodelle mit einbezogen werden: Herzen spontanhypertensiver Ratten sowie die Herzen neugeborener und bis zu 4 Wochen alter Ratten. Letztere wurden deshalb ins Programm mit aufgenommen, weil sich hier ein funktionell und morphologisch unausgereiftes Herz (55, 150, 159) an neue hämodynamische Verhältnisse anpassen muß und zudem eine Überlagerung durch Wachstumseffekte stattfindet. Da die enzymatischen Veränderungen des neonatalen Rattenmyokards schon relativ gut untersucht worden sind (6, 64, 82, 98, 139, 150, 159), wurden nur noch einige wenige Fragestellungen zum Kohlehydratstoffwechsel bearbeitet.

Parallel zu quantitativ-enzymatischen Experimenten mit Herzmuskelhomogenat liefen enzymhistochemische an Gefrierschnitten, um auch die Frage zu klären, ob durch die chronische hämodynamische Belastung des Myokards regionale Unterschiede der Enzymaktivitätsverteilung induziert werden konnten.

1.2 ÜBERSICHT ÜBER MORPHOLOGISCHE UND FUNKTIONELLE BEFUNDE AM GOLDBLATT-II- UND AM SCHWIMMRATTENMODELL

Der eingangs (s.1.1, S.2) zitierte Bericht Richard BRIGHTs zeigt, daß bereits Mitte des letzten Jahrhunderts der Zusammenhang von Nierenerkrankungen und Herzhypertrophie bekannt war und schon damals eine periphere Vasokonstriktion als Glied in der Kausalkette in Betracht gezogen wurde. In den letzten Jahren wurde deutlich, daß diese Vorstellung in vielen Fällen tatsächlich zutrifft. Sowohl im Falle des renoparenchymatösen als auch des renovaskulären Hochdrucks ist das Renin-Angiotensin-System pathogenetisch wichtig (49, 135), und zwar wahrscheinlich über einen permanenten relativen oder absoluten Hyperreninismus. Dieser führt seinerseits - indirekt über das Angiotensin - zu einer Verengung der peripheren arteriellen Blutgefäße (49), was für die linke Herzkammer eine andauernde Druckbelastung bedeutet. Diese schließlich trägt wohl entscheidend zur Entwicklung der Hypertrophie bei (135), wenn auch andere Faktoren wahrscheinlich mitbeteiligt sind (37, 61, 129).

Bei Ratten mit einseitig stenosierter Nierenarterie (Goldblatt-II-Modell) werden, wie wohl in allen Fällen chronischer Herzbelastung, die mechanischen Parameter der Herzfunktion von der Überlastung ganz unterschiedlich beeinflußt, je nachdem wie stark ausgeprägt sie ist und wie lange sie bereits angedauert hat. So ist im frühen Stadium der "stabilen Hyperfunktion" die Arbeitskapazität des linken Ventrikels gegenüber den Normwerten erhöht. Auch die querschnittsbezogene Leistungsfähigkeit ist, wie der Verlauf der Spannungsentwicklung zeigt, anfänglich gesteigert; nach langdauernder Überlastung jedoch macht sich eine Beeinträchtigung bemerkbar (39). Eine verminderte myokardiale Dehnbarkeit ist meist erst nach einem mehrere Monate bestehenden Hypertonus nachzuweisen und geht oft mit einer Bindegewebsproliferation einher (54, 61). In diesen späten Phasen können dann auch erste Anzeichen einer Gefügedilatation auftreten (61). Auf zellulärer Ebene lassen sich

Veränderungen des Aktionspotentials und der transmembranösen Ca^{++}-Ströme feststellen (43), außerdem ist schon von frühen Stadien an das Volumenverhältnis der Myofibrillen zu den Mitochondrien klar zuungunsten der letzteren verändert (61, 153). Auf molekularer Ebene fanden MEDUGORAC und JACOB (93) eine schon frühzeitig herabgesetzte spezifische Aktivität der Ca^{++}-aktivierten Actomyosin-ATPase, was möglicherweise mit der verminderten maximalen Verkürzungsgeschwindigkeit (v_{max}) des Goldblattherzens in Zusammenhang steht. Mehrere Monate postoperativ sind dann auch kleinere Veränderungen der Stöchiometrie der Myosin-Untereinheiten im Sinne einer relativen Vermehrung der leichten Ketten, vor allem der LC 2, zu verzeichnen (90).

Völlig andere Verhältnisse liegen vor, wenn die vermehrte Herzbelastung auf gesteigerte körperliche Aktivität zurückzuführen ist. Schon im Jahre 1748 konnte ROBINSON (130) zeigen, daß der Herzindex wilder Tiere größer ist als der domestizierter. 1899 führte HENSCHEN (50) für den Menschen den Begriff des Sportherzens auf Grund von Untersuchungen an Skilangläufern ein. Spätere Studien ergaben, daß das Gewicht dieser Organe stets unter dem von LINZBACH (77) angegebenen kritischen Herzgewicht lag und die Leistungsbreite vergrößert war (125).

V. LÜTZOW (80) war mit seiner Dissertation aus dem Jahre 1908 wohl einer der ersten, der Herzgewichte trainierter und untrainierter Tiere gleicher Rasse verglich: nach seinen Messungen weisen Laufpferde teilweise doppelt so schwere Herzen auf wie Schrittpferde. Treten zwar derartige Massenzunahmen des Herzmuskels bei entsprechend beanspruchten Ratten nicht auf, so macht sich doch nach längerem Schwimm- oder Lauftraining eine erhöhte querschnittsbezogene Leistungsfähigkeit des Rattenmyokards bemerkbar (63, 80, 94, 116). Myokardiale Dehnbarkeit (80) und Kollagenkonzentration (94) bleiben unverändert. Die Untersuchung der myofibrillären Proteine läßt wichtige Unterschiede zwischen schwimmtrainierten und normalen Herzen erkennen: so nimmt

der Myofibrillengehalt leicht zu (87), die Ca^{++}-aktivierte spezifische Actomyosin-ATPase-Aktivität steigt beträchtlich an (13, 94) und das Verhältnis LC 1/LC 2 erhöht sich um fast 20 % (94).

Erhöhte mechanische Belastungen des Herzmuskels treten also in beiden Modellen, dem der Goldblattratten wie dem der Schwimmratten, auf. Die zeitlichen Charakteristika der Stressoren (chronisch gegenüber intermittierend) und die pathogenetischen Mechanismen (sofern man davon bei Schwimmratten überhaupt sprechen kann) sind aber so unterschiedlich, daß es nicht verwundert, wenn sich das Ausmaß der Hypertrophie (bis zu 70 % bei Goldblattratten, selten mehr als 20 % bei Schwimmratten, wenn überhaupt) wie auch die funktionellen, strukturellen und biochemisch faßbaren Auswirkungen stark voneinander unterscheiden. Eine der Aufgaben der vorliegenden Arbeit war es zu zeigen, daß auch auf der biochemisch-enzymatischen Ebene wesentliche Unterschiede zwischen den beiden Hypertrophieformen bestehen.

1.3 KURZCHARAKTERISIERUNG DER UNTERSUCHTEN ENZYME

1.3.1 CITRATSYNTHASE (CS, E.C. 4.1.3.7)

Die CS des Rattenherzens tritt als ein einheitliches Dimer aus 2 identischen Untereinheiten mit einem Molekulargewicht von jeweils ca. 50 000 auf (103). Sie liegt in gelöster Form in der Mitochondrienmatrix vor (121) und katalysiert die "Initialreaktion" des Citratzyklus (152):

Oxalacetat + Acetyl-CoA $\longrightarrow$ Citrat + CoA (Abb.1, S.103).

In diesem Rahmen spielt sie eine wesentliche Rolle einerseits bei der Bildung von Reduktionsäquivalenten für die Energiegewinnung in der Atmungskette, andererseits bei der Bereitstellung einfacher Bausteine für die Biosynthese komplexer Verbindungen (z.B. α-Ketoglutarat, Succinyl-CoA).

Das Enzym wird hinsichtlich seiner Aktivität in vitro von der Ionenstärke beeinflußt, benötigt aber für seine Funktion offenbar keine speziellen Salze (137). Durch $NADH_2$ und möglicherweise auch ATP, die Endprodukte des Citratzyklus, ebenso wie durch α-Ketoglutarat und Palmitoyl-CoA wird das Enzym in vitro gehemmt, durch AMP hingegen aktiviert (138, 152, 157).

1.3.2 HYDROXYACYL-CoA-DEHYDROGENASE (HOADH, E.C. 1.1.1.35)

Ähnlich wie die CS besteht die HOADH des Schweineherzens aus 2 identischen Untereinheiten mit einem Molekulargewicht von zusammen 67 000 (101). Es handelt sich um ein mitochondriales Enzym (121), das die vorletzte Reaktion der ß-Fettsäure-Oxidation katalysiert:

L-(+)-ß-Hydroxy-Acyl-CoA + NAD $\rightleftharpoons$ ß-Keto-Acyl-CoA + $NADH_2$ (Abb.1, S.103). Es ist außerdem am Cholesterin- und Aminosäurestoffwechsel sowie der mitochondrialen Fettsäure-Kettenverlängerung beteiligt. Die Aktivität nimmt mit zunehmender Kettenlänge der Substrate ab und verschwindet ganz bei verzweigtkettigen Acyl-CoA-Verbindungen (101).

In den Rattenlebermitochondrien existieren wahrscheinlich zwei verschiedene HOADH-Enzyme (30). Die eine ist löslich und in der Matrix lokalisiert, zeigt bei kurzkettigem ß-Keto-Acyl-CoA als Substrat eine höhere Aktivität als bei langkettigem und weist ein Molekulargewicht von ca. 70 000 auf. Die andere findet sich in der Innenmembranfraktion der Mitochondrien und verhält sich gegenüber lang- und kurzkettigem ß-Keto-Acyl-CoA genau umgekehrt, ist aber für langkettiges viel spezifischer als die Matrix-HOADH für kurzkettiges. Über Herzmitochondrien liegen bislang keine entsprechenden Informationen vor.

1.3.3 HEXOKINASE (HK, E.C. 2.7.1.1)

Die Hexokinase des Rattenherzens tritt in Form dreier Isoenzyme auf, die Produkte verschiedener Gene zu sein scheinen (145): HK I, HK II und HK III. In anderen Geweben kommen z.T. weitere Formen vor (28, 65). Bei den Hexokinasen handelt es sich um Proteine mit einem Molekulargewicht von ca. 96 000 (106). Sie katalysieren u.a. die Reaktion

Glucose + ATP $\longrightarrow$ Glucose-6-P + ADP (Abb.1, S.103),

also den ersten Schritt bei der Einschleusung freier Glucose in den Kohlehydratstoffwechsel.

Hexokinase liegt in löslicher und an zelluläre Strukturen (Mitochondrien, Mikrosomen) gebundener Form vor. Die HK II ist für ca. 65 % der löslichen Aktivität verantwortlich, während man HK I zum größeren Teil in den partikulären Fraktionen findet; HK III tritt im Herzmuskelhomogenat nur in Spuren, und zwar gelöst, auf (67). Ein Teil des gebundenen Enzyms, vor allem HK I, scheint inaktiv zu sein. Die übrige strukturgebundene Hexokinase gilt aber als physiologisch aktiver als die gelöste Form (106), wenn auch die Aktivität der letzteren durch bestimmte Metaboliten offenbar leichter zu regulieren ist (144). Die 3 Hexokinasen des Rattenherzens haben für Glucose unterschiedliche K_m-Werte:
HK I um $4{,}5 \times 10^{-2}$mM, HK II um $2{,}5 \times 10^{-1}$mM und HK III

$7{,}0 \times 10^{-3}$mM mit Hemmung im Substratüberschuß (42). Außerdem ist die Enzymaktivität von der Anwesenheit von Mg^{++} und Mn^{++} abhängig und unterliegt einer Produkthemmung (106). Die genannten unterschiedlichen Eigenschaften der einzelnen Isoenzyme lassen vermuten, daß sie verschiedene Aufgaben wahrnehmen (106).

1.3.4 LACTATDEHYDROGENASE (LDH, E.C. 1.1.1.27)

Die LDH ist ein aus 4 Untereinheiten bestehendes Enzymprotein mit einem Molekulargewicht von etwa 140 000 (32). Jede der 4 etwa gleichgroßen Untereinheiten ist entweder ein M- oder ein H-Monomer, die beide für sich keine Enzymaktivität besitzen (18). Insgesamt ergeben sich 5 Kombinationsmöglichkeiten von je 4 Monomeren, die Isoenzyme:

$LDH\text{-}H_4$, $LDH\text{-}MH_3$, $LDH\text{-}M_2H_2$, $LDH\text{-}M_3H$ und $LDH\text{-}M_4$.

Die LDH tritt praktisch in allen Geweben höherer Tiere auf. Sie katalysiert die Reaktion

$$\text{Lactat} + \text{NAD} \rightleftharpoons \text{Pyruvat} + NADH_2$$ (Abb.1, S.103).

Dieser Stoffwechselweg ist eng mit dem der Glykolyse, der Gluconeogenese und des Citratzyklus verknüpft und regelt zusammen mit anderen Enzymsystemen den $NADH_2$/NAD-Quotienten in der Zelle, mithin deren Redoxpotential (72, 155).

Die kinetischen Eigenschaften der Isoenzyme verändern sich mit der Zusammensetzung: solche mit hohem Anteil der H-Untereinheiten haben eine niedrigere maximale Reaktionsgeschwindigkeit, Substratoptimum und damit auch -hemmung liegen bei niedrigeren Lactat- und Pyruvatkonzentrationen (18, 149). Die katalytische Aktivität wird durch verschiedene Faktoren beeinflußt. Sie verändert sich z.B. mit der Konzentration einiger Ionen (128) und unterliegt einem Hemmechanismus, der auf der Bildung von Enzym-Substrat-Komplexen beruht (22). Die Assoziation mit Anteilen der partikulären Zellfraktion vermag Aktivitätsparameter und Hemmcharakteristika zu verändern (58). Auch hinsichtlich

der Empfindlichkeit für diese Regulationsmechanismen unterscheiden sich die Isoenzyme beträchtlich.

1.3.5 SUCCINATDEHYDROGENASE (SDH, E.C. 1.3.99.1)

Die nun folgende Beschreibung der SDH beruht im wesentlichen auf der Arbeit von (46).

Es handelt sich bei diesem Enzym um das einzige des Citratzyklus, das membrangebunden ist (innere Mitochondrienmembran). Die lösliche Präparation besteht aus zwei ungleichen Untereinheiten mit Molekulargewichten von ca. 70 000 und 27 000, enthält kovalent gebundenes FAD an der größeren Untereinheit sowie nicht-hämgebundenes Eisen. Offenbar ist es räumlich eng mit Bestandteilen der Atmungskette ("Komplex II", Ubichinon) verknüpft und kann auch Elektronen an diese abgeben. Die SDH katalysiert die Reaktion

Succinat + FAD $\rightleftharpoons$ Fumarat + $FADH_2$ (Abb.1, S.103).

Die Fumaratreduktase-Aktivität ist allerdings sehr klein im Vergleich mit der Succinatoxidase-Aktivität. Liegt die SDH in gelöster, also membranfreier Form vor, so wird Phenazinmethosulfat (PMS) oder Ferricyanid als Elektronenakzeptor benötigt. Wie die histochemischen Nachweisrechniken (s.2.2.4.2, S.30) zeigen, ist dies bei der membrangebundenen Form nicht erforderlich. Das Enzym kann durch Substrate (z.B. Succinat, Malonat, Fumarat), Phosphat, Phosphonucleotide (ATP, ITP, IDP), Ubichinon, Ionen (z.B. SO_4^{--}, NO_3^-), Phospholipide und andere Substanzen aus einem inaktiven Zustand in einen aktivierten übergeführt werden. Ubichinon stellt möglicherweise den Hauptregulator der SDH-Aktivität dar.

1.3.6 MYOFIBRILLAR-ADENOSINTRIPHOSPHATASE (MYOFIBRILLAR-ATPASE, E.C. 3.6.1.3)

Die Aktivität der Myofibrillar-ATPase ist für die Energiegewinnung aller muskulären Kontraktionsprozesse unabdingbar und geht letztlich auf die Fähigkeit des Makromoleküls Myosin zurück, ATP in ADP und anorganisches Phosphat zu spalten. In situ ist es mit weiteren myofibrillären Proteinen vergesellschaftet: Actin, Troponin und Tropomyosin, die zwar für die Regulation der ATPase-Aktivität in vivo wichtig (94), für die ATP-Spaltung durch Myosin in vitro jedoch nicht erforderlich sind.

Myosin hat ein Molekulargewicht von etwa 500 000 (86). Es besteht aus zwei identischen schweren Ketten (2 HC) mit je einem globulären Ende, denen im Herzmuskel 2 Paare leichter Ketten (2 LC 1 und 2 LC 2) angelagert sind (85). Ohne die leichten Ketten besitzt das Myosinmolekül keine ATPase-Aktivität (69). Sie wird in vitro durch Ionen wie Ca^{++}, Mg^{++} oder K^{+} beeinflußt (140). Die ATP-Spaltung erfolgt in vivo im Rahmen eines zyklischen Prozesses (117).

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 UNTERSUCHUNGSMATERIAL

2.1.1 VERSUCHSTIERE

2.1.1.1 Tierhaltung

Sämtliche Versuchstiere wurden über die Versuchstierzucht Ivanovas (Kisslegg/Allgäu) bezogen und in Käfigen zu 4-5 Ratten gehalten. Ernährt wurden sie mit Trockenfutter (ssniff R Alleindiät für Ratten, Versuchstier-Diäten GmbH, Soest/Westf.) und Wasser ad libitum, ausgenommen die frischgeworfenen Ratten, die bis zum Alter von ca. 4 Wochen mit der Mutter-Ratte in einem separaten Käfig zusammenblieben und von ihr gesäugt wurden.

2.1.1.2 Die einzelnen Tierkollektive

a) Ratten im Alter von 0 - 4 Wochen (Jung-Ratten)

Trächtige Wistar-Rattenweibchen wurden einzeln in Käfigen gehalten und behielten die geworfenen Jungen bis zur Untersuchung derselben bei sich.

b) Goldblattratten

Für die Versuche an Goldblattratten wurden männliche Albino-Ratten vom Wistar-Typ verwendet. Zum Zeitpunkt der Operation waren alle etwa 160 bis 180 g schwer und ca. 8 Wochen alt. Bei einem Teil der Tiere wurde der Goldblatt-II-Technik folgend unter leichter Äthernarkose die linke Niere durch einen medianen dorsalen Hautschnitt freigelegt und die linke Nierenarterie mit einem Silberclip (lichte Weite 0,2 mm) eingeengt (158). Muskulatur und Haut wurden daraufhin wieder vernäht und die Wunde mit Kollodium bestrichen, um eine störungsfreie Heilung zu gewährleisten. Gleichaltrige nichtoperierte Ratten dien-

ten als Kontrolltiere. 4 und 8 Wochen nach der Operation wurde der systolische Blutdruck in der Schwanzarterie plethysmographisch bestimmt (40). Nur solche operierten Tiere wurden im Untersuchungsprogramm belassen, die einen Druck von mehr als 150 mm Hg aufwiesen und damit die für die Ratte geltende Hypertonieschwelle überschritten hatten (49). Operierte und nichtoperierte Tiere wurden dann in 3 verschiedenen Stadien untersucht: 4 - 6 Wochen, 8 - 12 Wochen und 10 - 14 Wochen nach dem Operationstermin. Es wurde davon ausgegangen, daß Ratten im Alter von ca. 4 Monaten ausgewachsen sind. Dies bedeutet, daß die 4 - 6 Wochen nach der Operation untersuchten Tiere sich noch im Wachstumsstadium befanden.

c) Schwimmratten

8 Wochen alte, ca. 200 g schwere männliche Ratten vom Sprague-Dawley-Typ wurden vor Beginn des eigentlichen Schwimmprogramms einem Aufbautraining von 14 Tagen unterzogen, währenddessen die tägliche Schwimmdauer von anfänglich 5 Minuten allmählich auf 2 Stunden gesteigert wurde. Daran schloß sich das eigentliche Training über 10 - 14 Wochen an. Während dieser Zeit schwammen die Ratten an 6 Tagen der Woche ununterbrochen jeweils 2 Stunden lang. Sie befanden sich während des Trainings in einer mit Wasser von 35-37°C gefüllten Wanne, in der sie zu ständigem Schwimmen gezwungen waren. Nach Beendigung des täglichen Trainings verbrachten sie regelmäßig ca. 90 Minuten unter einem Heizstrahler, um rasches Trocknen zu gewährleisten. Als Kontrolltiere dienten gleichaltrige untrainierte Ratten.

d) Spontanhypertensive Ratten

1963 berichteten OKAMOTO und AOKI (109) über die Züchtung eines Wistar-Kyoto-Rattenstammes, bei dem im Laufe des Lebens regelmäßig eine allmähliche Blutdruckerhöhung mit Herzhypertrophie auftritt. Im Rahmen der Untersuchung

dieses Hypertrophiemodells an unserem Lehrstuhl wurden für diese Arbeit einige Herzsepten 10 Monate alter Tiere dieses Stammes zur Verfügung gestellt. Als Kontrolltiere dienten gleichaltrige nichthypertensive Wistarratten.

2.1.2 BEZUGSQUELLENNACHWEIS FÜR CHEMIKALIEN

Von der Firma Boehringer, Mannheim:
- Acetyl-Coenzym A Trilithiumsalz
- N-Acetyl-S-acetacetylcysteamin (NASAC)
- 5,5'-Dithio-bis(-2-nitrobenzoesäure) (DTNB)
- Glucose-6-phosphat-dehydrogenase aus Hefe
- Oxalessigsäure

von der Firma Merck, Darmstadt:
- Adenosin-5'-triphosphorsäure Dinatriumsalz
- Folin-Ciocalteus Phenolreagenz
- Polyvinylpyrrolidon

von der Firma Serva, Mannheim:
- Acrylamid
- N,N'-Methylenbisacrylamid (Bis)
- L-Milchsäure, Natriumsalz
- Natriumsuccinat
- ß-Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD)
- ß-Nicotinamid-adenin-dinucleotid, reduziert, Dinatriumsalz ($NADH_2$)
- ß-Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat, Dinatriumsalz (NADP)
- p-Nitroblautetrazoliumchlorid (Nitro-BT)
- Phenazinmethosulfat (PMS)
- N,N,N',N'-Tetramethyläthylendiamin (TEMED).

Auch im übrigen wurden p.a.-Chemikalien der oben erwähnten Firmen benutzt.

2.2 METHODEN

2.2.1 ANALYSENMATERIAL

2.2.1.1 Gewinnung des Analysenmaterials zur quantativ-enzymatischen Analyse und zur Proteinbestimmung

Sämtliche Versuchstiere wurden vor der Entnahme des Herzens gewogen und mit Äther narkotisiert. Durch einen großzügigen Thorakotomieschnitt konnten das gesamte Herz und die herznahen Anteile der großen Gefäße rasch exzidiert werden. Dieses Präparat wurde dann in eisgekühlter physiologischer Kochsalzlösung durch Eigenkontraktionen weitgehend entblutet. Bei jungen Ratten erfolgten die weiteren Schritte unter einem Stereomikroskop IV (Firma Carl Zeiss, Oberkochen/Württ.) mit 25 - 40 facher Vergrößerung. So schnell wie möglich wurden mit feiner Schere und Pinzette alle sichtbaren Gefäße, größere bindegewebige Strukturen (z.B. Herzklappen) und die Vorhöfe abgetrennt. Die freie Wand des rechten Ventrikels, im weiteren als "rechter Ventrikel" bezeichnet, wurde abpräpariert und, wie auch die im folgenden als "linker Ventrikel" bezeichnete Struktur aus Septum und freier Wand des linken Ventrikels, auf einer feinen Waage abgewogen. Unmittelbar danach wurden die linken Ventrikel einzeln in 1 - 2 ml Standardpuffer +) innerhalb von ca. 30 sec auf den Siedepunkt flüssiger Luft abgekühlt. Die Proben wurden dann bei -30°C bis zur Analyse aufbewahrt, meist nicht länger als 1 oder 2 Tage. Zur Untersuchung der Neugeborenenherzen mußten jeweils 2 oder 3 linke Ventrikel gepoolt werden. Von den Herzen der Spontanhypertensivratten stand nur das interventrikuläre Septum zur Enzymanalyse zur Verfügung. Die Präparation erfolgte aber in der oben angegebenen Weise.

+) 67 mM Phosphatpuffer pH 7,2 .

2.2.1.2 Gewinnung des Analysenmaterials zur histochemischen Untersuchung

Exzision und Präparation der Herzen erfolgte wie unter 2.2.1.1 geschildert. Der linke Ventrikel wurde ohne Puffer in flüssiger Luft eingefroren, auf eine tiefgefrorene Schicht Standardpuffer +) in ein Deckelglas gelegt und so bis zur Aufarbeitung bei -30°C aufbewahrt. Dadurch ließ sich das Austrocknen der Präparatoberfläche verzögern. - Für Vergleichszwecke wurden auch je ein M. triceps surae und ein M. extensor digitorum longus der unteren Extremität zweier Versuchsratten exzidiert, in derselben Weise eingefroren und später histochemisch untersucht.

+) 67 mM Phosphatpuffer pH 7,2 .

2.2.2 QUANTITATIV-ENZYMATISCHE ANALYSE

2.2.2.1 Herstellung der Rohhomogenate

Als Anleitung hierfür dienten die Arbeiten von BASS et al. (10), BOLL (16) und KUBISTA et al. (73). - Der eingefrorene linke Ventrikel wurde rasch aufgetaut und zuerst mit einer feinen Schere zerkleinert. Diese Gewebsteile und die 1 - 2 ml Standardpuffer [+)], in die der Ventrikel eingefroren gewesen war, wurden in einem Meßzylinder mit Standardpuffer [+)] auf ein Volumen aufgefüllt, das in Millilitern ungefähr dem 20-fachen des Gewichts in Gramm des verwandten Gewebes entsprach. Bei Versuchen mit Jungratten mußte anstelle des 20-fachen das 50- bis 100-fache Volumen eingesetzt werden. Das Gewebe wurde dann unter Eiskühlung während 4 mal 20 Sekunden mit dazwischengeschalteten 30-Sekunden-Intervallen mit Hilfe eines Ika-Ultra-Turrax TP 18/2 (Janke und Kunkel K.G., Staufen i.Br., Schäfte 18 K oder 10 N) bei maximalen Umdrehungszahlen (20 000 U/Minute) homogenisiert. Um auch mitochondriale Enzyme weitestgehend erfassen zu können, wurde im nächsten Schritt ein Äquivalent des Homogenats mit demselben Volumen einer 2 %igen Triton-X-100-Lösung (in Standardpuffer [+)]) versetzt und diese Mischung unter Eiskühlung mit einem Magnetrührer 30 Minuten lang gerührt. Die Abtrennung unlöslicher Bestandteile dieser Suspension erfolgte anschließend in einer MSE Automatic Superspeed 50 t.o.-Zentrifuge (Measuring & Scientific Equipment Ltd., London/England) bei einer mittleren Sedimentationsbeschleunigung von 150 000 g (50 000 rpm) während 1 Stunde. Das Sediment wurde verworfen. Der Überstand diente als sog. Rohhomogenat als Ausgangsmaterial für sämtliche Enzymaktivitäts- und Proteinbestimmungen und wurde bis zur Verwendung unter Eiskühlung aufbewahrt.

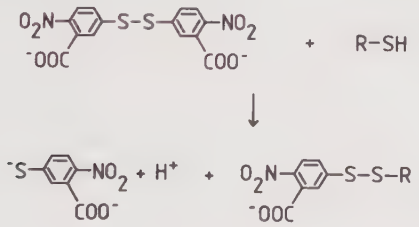
+) 67 mM Phosphatpuffer pH 7,2 .

2.2.2.2 Allgemeines zu den Enzymaktivitätsbestimmungen

Alle Enzymaktivitätsbestimmungen wurden in einem Digitalphotometer 6114 S (Eppendorff Gerätebau Netheler und Hinz G.m.b.H., Hamburg) in Thermoküvetten bei 25°C durchgeführt. Das Rohhomogenat wurde jeweils so stark verdünnt, daß bei den verwandten Substratkonzentrationen die Reaktionsgeschwindigkeit während der ersten 4 Minuten konstant blieb. Dies wurde in Vorversuchen mit einem angeschlossenen Potentiometerschreiber Servogor S (Goerz Electro Ges.m.b.H., Wien/Österreich) kontrolliert. Abgelesen wurde am Digitalphotometer jeweils 60, 120 und 180 Sekunden nach Reaktionsstart und hieraus die Extinktionsveränderung pro Minute errechnet. Die Ablesung nach 120 Sekunden diente der Sicherstellung, daß die Reaktion in jedem einzelnen Fall auch einer annähernd linearen Kinetik folgte. Pro Rohhomogenat wurden für jedes Enzym wenigstens 3 Bestimmungen durchgeführt und der Mittelwert den Aktivitätsberechnungen zugrunde gelegt. Bei größeren Unterschieden wurden weitere Bestimmungen der entsprechenden Enzymaktivität vorgenommen.

2.2.2.3 Bestimmung der Citratsynthase-Aktivität

Der blaßgelbe Farbstoff DTNB (Ellman's Reagens) reagiert spontan mit freien SH-Gruppen und wird dabei in 2 Teile gespalten, ein Mercaptidion und ein organisches Disulfid (31):



R = CoA oder Protein

Das Mercaptid-Ion besitzt bei 412 nm ein starkes Absorptionsmaximum, was für die Ausgangssubstanzen nicht zutrifft. Die Citratsynthase nun katalysiert eine Reaktion, bei der eine freie SH-Gruppe pro umgesetzten Substratmoleküls entsteht:

Oxalacetat + Acetyl-CoA ⟶ Citrat + CoA-SH.

Fügt man also das DTNB einem Oxalacetat, Acetyl-CoA und Citratsynthase enthaltenden Reaktionsgemisch hinzu, so reagiert es mit dem entstehenden CoA-SH, und pro Mol gespaltenen Acetyl-CoAs wird ein Mol Mercaptid-Ionen gebildet. Die Geschwindigkeit der Entstehung dieses Ions kann somit als Index für die Aktivität der Citratsynthase dienen. - In einem proteinhaltigen Organextrakt wie dem hier verwendeten Rohhomogenat sind allerdings schon von vornherein freie SH-Gruppen vorhanden. Diese Tatsache erforderte die zusätzliche Bestimmung eines eigenen Leerwerts für jedes einzelne Rohhomogenat. - Entsprechend den Vorschriften von SRERE (136) lagen im Ansatz in einem Endvolumen von 1000 µl nachstehende Endkonzentrationen vor:

Tris HCL-Puffer pH 8,1	100 mM
Acetyl-Coenzym A	0,36 mM
Oxalacetat	0,5 mM
DTNB	0,1 mM .

Reaktionsstart erfolgte durch Zugabe des Oxalacetats, die Extinktion wurde bei 405 nm verfolgt. Bei der Berechnung der einzelnen Enzymaktivitäten wurde der Blindwert des jeweiligen Rohhomogenats subtrahiert. Er wurde mit demselben Ansatz ermittelt, wobei jedoch das Oxalacetat durch aqua dest. ersetzt war.

2.2.2.4 Bestimmung der Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase (HOADH)-Aktivität

Bei der Bestimmung der HOADH-Aktivität nach BERGMEYER (12) wird diesem Enzym das Acyl-CoA-Analoge N-Acetyl-S-acetacetylcysteamin (NASAC) zusammen mit $NADH_2$ als Substrat angeboten. Die Geschwindigkeit der Oxidation von $NADH_2$ bei gleichzeitiger Reduktion von NASAC dient dann als Maß für die HOADH-Aktivität:

$$NADH_2 + NASAC \longrightarrow NAD + NASAC\text{-}H_2 \ .$$

Die Abnahme der $NADH_2$-Konzentration in der Testküvette läßt sich bei 365 nm verfolgen.

Bei einem Endvolumen von 1000 µl lagen im Testansatz folgende Endkonzentrationen vor:

Na_2-Pyrophosphat-Puffer pH 7,3	94 mM
Na_2-$NADH_2$	0,2 mM
NASAC	4,7 mM .

Reaktionsstart erfolgte durch Zugabe von 100 ul einer Rohhomogenatverdünnung. Der durch Spontanzerfall des $NADH_2$ auftretende Blindwert wurde mit Hilfe desselben Tests, jedoch unter Ersatz des NASAC durch H_2O , bestimmt und bei den späteren Kalkulationen berücksichtigt.

2.2.2.5 Bestimmung der Hexokinase-Aktivitäten

Die Hexokinase liegt im Rattenmyokard in 3 Isoenzymformen vor (65), die sich, wie eigene Versuche gezeigt haben, mit der unter 2.2.2.7 beschriebenen Methode nur unzureichend trennen lassen. Um dennoch eine gewisse Auskunft über Isoenzym-Aktivitätsveränderungen, speziell des Isoenzyms III, zu erhalten, wurde die Hexokinase-Aktivität zum einen bei einer Glucosekonzentration von 100 mM bestimmt - Hexokinase III unterliegt dann einer Überschußhemmung - , zum anderen bei 0,5 mM, wo diese Hemmung nicht ins Gewicht fällt (65).

Nach FALKENBERG (33) bietet sich als einfache Methode zur HK-Aktivitätsbestimmung in der Küvette die Koppelung der HK-Reaktion mit der durch Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase katalysierten Reaktion

Glucose-6-Phosphat + NADP $\rightleftharpoons$ 6-Phospho-Gluconolacton + $NADPH_2$

an, wobei das Glucose-6-Phosphat aus der Hexokinase-Reaktion stammt. Die Bildung von $NADPH_2$ kann dann als Maß für die Hexokinaseaktivität bei 365 nm verfolgt werden. Gemäß dieser Vorschrift waren im Testansatz (Endvolumen 800 ul) enthalten:

Tris/HCl-Puffer pH 8,6	74	mM
ß-Mercaptoäthanol	5	mM
$MgCl_2 \cdot 6\ H_2O$	7,4	mM
NADP	0,55	mM
Glucose	100	mM oder 0,5 mM
Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase	0,35	IU/ml .

Reaktionsstart erfolgte durch Zugabe von 100 ul adäquat verdünnten Rohhomogenats. Ein Leerwert wurde mit demselben Ansatz, jedoch ohne ATP, ermittelt und bei den Berechnungen entsprechend berücksichtigt. Die Bestimmung der Glucosekonzentration im Rohhomogenat mit Hilfe der "Test-Combination Glucose (Hexokinase-Methode)" (Boehringer, Mannheim) zeigte, daß diese vernachlässigt werden konnte.

2.2.2.6 Bestimmung der Gesamtaktivitäten der Lactatdehydrogenase (LDH)

Bei allen Versuchstieren wurde die LDH-Aktivität bei der Reaktion Pyruvat + $NADH_2 \longrightarrow$ Lactat + NAD (im folgenden als LDH_{pyr}-Aktivität bezeichnet) untersucht, teilweise auch die bei der Reaktion Lactat + NAD $\rightarrow$ Pyruvat + $NADH_2$ (im folgenden als LDH_{lac}-Aktivität bezeichnet).

a) Bestimmung der LDH_{pyr}-Aktivität

Abgesehen von leichten Veränderungen konnte der von BOLL (16) beschriebene Ansatz übernommen werden. Zuvor mußten jedoch die für die Rohhomogenate optimalen Pyruvatkonzentrationen im Testansatz bestimmt werden, und zwar gesondert für ausgewachsene Ratten und für jede einzelne Altersgruppe der Jungratten. Die Endkonzentrationen im Ansatz (Gesamtvolumen 800 µl) waren dementsprechend:

Standardpuffer (Phosphatpuffer pH 7,2)	67 mM	
$NADH_2$-Na_2	0,4 mM	
Natriumpyruvat	0,66 mM	für neugeborene Ratten
	0,55 mM	für 1 und 2 Wochen alte Jungratten
	0,41 mM	für Ratten älter als 2 Wochen (vgl. auch Abb.12, S.123).

Die Reaktion wurde durch Zugabe von Natriumpyruvat gestartet und die Geschwindigkeit der Oxidation des $NADH_2$ bei 365 nm gemessen. Um die Spontanzerfallsrate des $NADH_2$ zu ermitteln, wurden in separaten Versuchen analoge Messungen nach Ersatz des Pyruvats durch das gleiche Volumen aqua dest. durchgeführt.

b) Bestimmung der LDH_{lac}-Aktivität bei Spontanhypertensivratten

Diese Bestimmungen erfolgten nach den Angaben von AMADOR et al. (2). Bei Reaktionsbeginn lagen in dem 1500 µl enthaltenden Ansatz vor:

Na-Pyrophosphat-Puffer pH 8,8	46 mM
NAD	5 mM
Natriumlactat	24 mM .

Die Testreaktion wurde durch Zugabe von 100 µl des verdünnten Rohhomogenats gestartet. Die Geschwindigkeit der Bildung von $NADH_2$ wurde bei 365 nm verfolgt. Der Leerwert war vernachlässigbar.

2.2.2.7 LDH-Isoenzymanalyse

Zur Trennung und Quantifizierung der LDH-Isoenzyme bot sich eine diskelektrophoretische Methode an, die 1967 von DIETZ und LUBRANO (26) erstmals beschrieben worden war und für die vorliegende Untersuchung nur unwesentlich modifiziert werden mußte.

a) Gelherstellung

Diese erfolgte aus den

Stammlösungen A: 48 ml 1 N HCl
36,3 g Tris
0,23 g TEMED;
mit aqua dest. wurde auf 100 ml aufgefüllt und auf pH 8,9 eingestellt;

B: 140 mg $(NH_4)_2S_2O_3$ auf 100 ml mit aqua dest. aufgefüllt,

und C: 30 g Acrylamid
0,8 g Bis;
mit aqua dest. wurde auf 100 ml aufgefüllt.

Aus 2 Teilen Stammlösung A, 8 Teilen Stammlösung B, 2 Teilen aqua dest. und 4 Teilen Stammlösung C wurde zunächst eine 7,5 %ige Gellösung hergestellt. Von dieser wurden 11 Teile mit 4 Teilen aqua dest. verdünnt, sodaß schließlich eine 5,5 %ige Gellösung zur Verfügung stand. Diese wurde in 10 cm lange Glasröhrchen (Lumen 5 mm) bis zur 8 cm-Marke blasenfrei eingefüllt und sofort mit 50 µl aqua dest. vorsichtig überschichtet; nach erfolgter Polymerisation wurde letzteres wieder entfernt.

b) Durchführung der Elektrophorese

Die senkrechte Gelelektrophorese wurde bei Zimmertemperatur (115) in Geräten durchgeführt, deren runde Tanks an der Kathode wie an der Anode je ca. 1 l Elektrodenpuffer faßten (Abb.2, S.104): Der Elektrodenpuffer enthielt pro 1000 ml

0,6 g Tris und 2,88 g Glycin bei einem pH von 8,3. Die Rohhomogenate wurden mit 40 %iger Sucroselösung (in Elektrodenpuffer) auf das doppelte oder vierfache Volumen gebracht. 50 ul davon wurden auf die Gelsäulchen aufgetragen und mit 100 ul derselben Sucroselösung überschichtet. Eine Spur Bromphenolblau in je einer Probe pro Tank diente als Markierung für die Wanderungsgeschwindigkeit der Proteine im Elektrischen Feld. Während der ersten 10 Minuten der Elektrophorese betrug die Stromstärke 1 mA pro Gel, anschließend wurde sie auf 2 mA pro Gel erhöht. Sobald der Bromphenolmarker am unteren Ende des Röhrchens angekommen war - i.a. nach ca. 2 Stunden - , wurde die Elektrophorese beendet und die Gele aus den Glasröhrchen entnommen.

c) Ermittlung der relativen Isoenzymaktivitäten

Sofort nach Beendigung der Elektrophorese wurden die Gele bei 37°C für 5 Minuten in einer Färbelösung inkubiert. Diese war unmittelbar vorher aus 90 Volumenteilen Lösung I (s.u.), 2,5 Volumenteilen Lösung II (s.u.) und 100 mg NAD pro 90 Volumenteilen Lösung I gemischt und auf pH 7,6 eingestellt worden.

Lösung I enthielt in 360 ml wäßriger Lösung

2,4 g Lithiumlactat
0,24 g NaCl
8,32 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$
1,09 g KH_2PO_4
100 mg Nitro-BT .
Die Lösung wurde abschließend durch ein Papierfilter gefiltert.

Lösung II bestand aus

10 mg/ml Phenazinmethosulfat in aqua dest.

Beide Lösungen (I und II) waren eine Woche im Dunkeln haltbar. - Während der Inkubation der Gele katalysierten die aufgetrennten LDH-Isoenzyme den Wasserstoffaustausch zwischen Lactat und NAD. Dabei entstand $NADH_2$, das das blaß-

gelbe, wasserlösliche Tetrazoliumsalz zu einem in Wasser schwerlöslichen, blauvioletten Formazan-Derivat reduzierte; Phenazinmethosulfat fungierte dabei als Elektronenzwischenträger (106). An Gelzonen mit LDH-Aktivität entstand somit eine Blaufärbung, deren Absorptionsmaximum bei 530 - 580 nm, bevorzugt 540 nm, liegt (12a).

Nach beendeter Färbung wurden die Gele schnell in aqua dest. gespült und in 2 %iger Essigsäurelösung bis zur densitometrischen Auswertung (innerhalb von 7 Tagen) aufbewahrt. Zu diesem Zweck wurde ein Spektralphotometer PMQ 3 mit Disc-Ansatz ZK5 (Carl Zeiss, Oberkochen/Württ.) bei 540 nm benutzt, außerdem ein Potentiometerschreiber Servogor S (Goerz Electro-Ges.m.b.H., Wien/Österreich). Die erhaltenen Absorptionskurven wurden mit einem Planimeter von Hand ausgemessen und hieraus der Beitrag der einzelnen Isoenzyme zur LDH_{lac}-Gesamtaktivität errechnet (115).

2.2.3 PROTEINBESTIMMUNG

2.2.3.1 Herstellung der NaOH-Protein-Lösung

2 ml Rohhomogenat wurden in graduierten Zentrifugenröhrchen mit 0,3 ml 3 M-Trichloressigsäurelösung versetzt und dadurch alles Protein ausgefällt. Dieses wurde anschließend während 20 Minuten in einer HC 121 Labofuge I (Heraeus-Christ G.m.b.H., Osterode/Harz) bei 3175 U/Minute abzentrifugiert. Nach Dekantieren des Überstandes wurde das proteinhaltige Sediment mit aqua dest. bis zur 1 ml-Marke aufgefüllt und 1 ml 2 N-Natronlauge hinzugegeben. Das Protein lag damit in 1 N NaOH-Lösung vor (NaOH-Protein-Lösung).

2.2.3.2 Ermittlung der Konzentration des löslichen Proteins im Myokard

Je nach Menge des im Rohhomogenat vorliegenden Ausgangsmaterials wurden 200 - 500 ul der NaOH-Protein-Lösung zur Proteinbestimmung nach LOWRY et al. (79) verwandt. Da es sich hierbei, wie auch bei der weiter unten erwähnten modifizierten Biuret-Methode (11), um eine sehr gängige Technik handelt, wird sie hier nicht im einzelnen beschrieben. Zur Erstellung einer Eichgeraden wurden 13 verschiedene Rohhomogenate zu einem Standard-Rohhomogenat gepoolt. Hieraus wurden mit Standardpuffer verschiedene Verdünnungen hergestellt und in diesen die Eiweißkonzentrationen einerseits nach der modifizierten Biuret-Methode (11), andererseits nach den oben erwähnten Angaben von LOWRY et al. (79) bestimmt. Mit Hilfe dieser Eichgeraden konnten aus den Ergebnissen der Bestimmungen nach LOWRY et al. die Proteinkonzentrationen in den Rohhomogenaten und damit auch im jeweiligen Herzmuskelgewebe errechnet werden.

2.2.4 HISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN AN SCHWIMM- UND GOLDBLATTRATTEN

2.2.4.1 Aufarbeitung des Untersuchungsmaterials

Die zur histochemischen Untersuchung vorgesehenen linken Ventrikel wurden in einem Kryostat Modell WK 1160 mit Tischkühlung (Firma WKF, Brandau/Odenw.) zunächst bei -25°C in 6 µm dicke Präparate geschnitten. Die Schnittebenen lagen grundsätzlich parallel zur Ebene der Herzbasis. Die Schnitte wurden auf Deckgläser (24x50 mm) aufgetragen, wobei darauf geachtet wurde, daß auf jedem Deckglas je 1 Präparat eines belasteten Herzens (also aus einer Goldblatt- oder einer Schwimmratte) und eines Kontrollventrikels aus vergleichbaren Schnittebenen lagen. Für die histochemischen Färbungen wurden die Präparate erst unmittelbar zuvor rasch aufgetaut.

2.2.4.2 Nachweis der Succinat-Dehydrogenase-Aktivität

Die Beschreibung der Methode findet sich bei HAGMANN (44). Er verwandte eine Inkubationslösung, die sich folgendermaßen zusammensetzte:

15 Volumenteile Na-Succinat 25 mM
30 Volumenteile Nitro-BT 40 mM
15 Volumenteile Salzlösung aus
2,0 ml $CaCl_2$ 0,25 M
2,0 ml $MgSO_4$ 0,05 M
20,0 ml $NaHCO_3$ 0,6 M
8,0 ml $AlCl_3$ 0,01 M
aqua dest. ad 100 ml
4 Volumenteile KCN 100 mM
4 Volumenteile Amobarbital 100 mM

} in 67 mM Phosphatpuffer pH 7,6

Die Schnitte wurden bei 37°C 3,5 Minuten lang in der Inkubationslösung belassen, sofort 10 Minuten lang in 10 %iger Formaldehyd-Lösung (in physiologischer Kochsalzlösung) fixiert und zum Schluß in Glyceringelatine eingebettet.

Bei dieser Färbetechnik wird Succinat durch SDH zu Fumarat oxidiert. Der dabei anfallende Wasserstoff wird auf bislang unbekanntem Wege auf Nitro-BT übertragen, ein gut wasserlösliches, schwach gelbes Tetrazoliumsalz. Durch die Reduktion wird es in ein violettes, schwer wasserlösliches Formazan umgewandelt, sodaß sich eine violette Färbung an den Stellen der Schnitte zeigt, an denen SDH-Aktivität vorliegt.

2.2.4.3 Nachweis der Lactatdehydrogenase-Aktivität

Auch in diesem Falle wurde auf eine von HAGMANN (44) benutzte Technik zurückgegriffen. Die hierfür benötigte Stammlösung setzte sich zusammen aus

35 Volumenteilen Phosphatpuffer 67 mM, pH 7,4
25 Volumenteilen Nitro-BT 40 mM
1 Volumenteil $MgCl_2 \cdot 6\ H_2O$ 5 mM
1 Volumenteil KCN 100 mM
1 Volumenteil Amobarbital-Lösung 100 mM
3 mg Polyvinylpyrrolidin pro Teil Nitro-BT .

Alle Substanzen waren in 67 mM Phosphatpuffer pH 7,4 gelöst. Unmittelbar vor der Färbung wurden 9 ml Stammlösung mit 70 mg NAD versetzt. Zu jeweils 9 ml dieser Lösung wurde 1 ml einer Substratlösung gegeben, die in 67 mM Phosphatpuffer pH 7,4 Na-Lactat in einer Konzentration von 1,0 M enthielt. Die Myokardschnitte wurden 5 Minuten lang in dieser Lösung bei 37°C inkubiert. Nach beendeter Färbung erfolgten Fixierung und Einbettung wie schon in 2.2.4.2 beschrieben.

Diese histochemische Nachweisreaktion läuft analog der unter 2.2.4.3 beschriebenen ab: die LDH oxidiert das Lactat unter Entstehung von $NADH_2$ aus NAD. $NADH_2$ reduziert seinerseits das gelbe Tetrazoliumsalz zum violetten Formazan; an Präparatstellen mit dieser Anfärbung muß also LDH-Enzymaktivität vorliegen.

2.2.4.4 Nachweis der Myofibrillar-ATPase-Aktivität

Der ATPase-Aktivitäts-Nachweis erfolgte nach Präinkubation in alkalischem oder saurem Milieu (daher die im folgenden verwandten Begriffe "alkalistabile" bzw. "säurestabile ATPase") bei 20°C gemäß einer von MÜLLER im Jahre 1974 beschriebenen Methode (104). Die Gefrierschnitte (s.2.2.4.1, S.30) wurden zunächst 5 Minuten lang entweder - zum Nachweis der alkalistabilen ATPase - in 20 mM Glycin-HCl-Puffer pH 10,4 mit 20 mM $CaCl_2$ inkubiert, oder - wie im Falle der säurestabilen ATPase - in 100 mM Na-Acetat-Essigsäure-Puffer pH 4,1 . Anschließend wurden sie 30 Sekunden lang in 20 mM Glycin-HCl-Puffer pH 9,4 mit 20 mM $CaCl_2$ gewaschen. Die so vorbehandelten Präparate wurden dann zwischen 3 und 25 Minuten lang in einer Lösung inkubiert, die in 40 mM Glycin-HCl-Puffer pH 9,4 20 mM $CaCl_2$ und 2,5 mM Na_2-ATP enthielt. Hierauf wurden sie 3 mal 30 Sekunden in 1 % $CaCl_2$-Lösung gewaschen. Das bei der ATPase-Reaktion entstandene anorganische Phosphat lag nun in Form von $Ca_3(PO_4)_2$ vor, das während der folgenden 5 Minuten mit Hilfe einer 2 %igen $CoCl_2$-Lösung in $Co_3(PO_4)_2$ umgefällt wurde. Zur Entfernung evtl. vorhandenen überschüssigen Calciums wurde das Präparat 3 mal 30 Sekunden in aqua dest. gespült. Es schloß sich eine 30 Sekunden lange Inkubation in 1 %igem gelben Ammoniumsulfid an, so daß aus $Co_3(PO_4)_2$ und $(NH_4)_2S$ schwerlösliches CoS entstand. Dadurch nahmen die Präparatstellen mit ATPase-Aktivität eine schwarze Färbung an. Die Präparate wurden abschließend in aqua dest. gewaschen und in Glyceringelatine auf Objektträger aufgezogen.

2.2.4.5 Dokumentation der histochemischen Ergebnisse

Nach der Einbettung in Glyceringelatine wurden die Präparate umgehend unter einem Photomikroskop III (Carl Zeiss, Oberkochen/Württ.) untersucht und teilweise mit Ilford Pan F-, Agfacolor 80 S- und Agfachrome 50 L-Filmen photographiert.

2.2.5 STATISTISCHE AUSWERTUNG

Zu diesem Zwecke stand mir freundlicherweise das STATISTICAL PACKAGE FOR THE SOCIAL SCIENCES (107) als Programm eines Computers CDC 6600 der University of London an einem Terminal des Guy's Hospital, London, zur Verfügung.

Vergleicht man 2 Kollektive hinsichtlich einer bestimmten Variablen mit Hilfe eines Student-t-Tests, so geht man i.a. davon aus, daß die Varianzen bei beiden Kollektiven identisch sind. Da dies für meine Versuche nicht grundsätzlich angenommen werden kann, wurde in den meisten Fällen zunächst ein F-Test durchgeführt. War hierbei $p < 0{,}05$, so mußte man vom Vorliegen zweier Kollektive mit verschiedenen Varianzen ausgehen und einen entsprechend modifizierten Student-t-Test anwenden. Im anderen Falle wurde der gewöhnliche t-Test durchgeführt. Ein Unterschied der Mittelwerte zweier Kollektive wurde stets dann als statistisch signifikant angesehen, wenn $p < 0{,}05$ war.

3. ERGEBNISSE

3.1 VORBEMERKUNGEN ZUR TERMINOLOGIE

Wenn nicht ausdrücklich erwähnt, beziehen sich die in dieser Arbeit erwähnten Angaben über Enzymaktivitäten stets auf das Frischgewicht des linken Ventrikels, die "proteinbezogenen Aktivitäten" jedoch auf die gemessene Menge löslichen Proteins im Myokard.

Unter "linksventrikulärem Index" wird in Analogie zur gängigen Verwendung des Begriffs "Herzindex" das Verhältnis des Gewichts des linken Ventrikels zum Körpergewicht verstanden.

Der im Rahmen der LDH-Isoenzymstudien errechnete Beitrag der M-Untereinheiten zur LDH_{1ac}-Gesamtaktivität wird als M-Wert bezeichnet.

Bei den Versuchen mit Goldblattratten wurden 3 verschiedene Stadien bearbeitet und folgendermaßen benannt: das Kollektiv operierter und hypertensiver Tiere, das 4-6 Wochen nach der Operation untersucht wurde, läuft unter der Bezeichnung GBR_5 , das 8-12 Wochen nach der Operation untersuchte Kollektiv unter GBR_{10} und das 10-14 Wochen nach der Operation untersuchte unter der Bezeichnung GBR_{12}. Die jeweiligen Kontrollkollektive werden entsprechend als KR_5 , KR_{10} und KR_{12} bezeichnet.

3.2 VERSUCHE AN GOLDBLATTRATTEN

3.2.1 HERZ- UND KÖRPERGEWICHTE (Tab.1, S.125), BLUTDRUCKWERTE (Abb.3, S.104)

Vier bis sechs Wochen postoperativ war das Körpergewicht der hypertensiven Tiere um 34 % ($p < 0{,}001$) hinter dem der Kontrollen zurückgeblieben, 8-12 Wochen postoperativ lag es nur noch um 16 % zurück ($p < 0{,}01$). 10-14 Wochen nach der Operation waren dann keine signifikanten Unterschiede zwischen hypertensiven und normotensiven Tieren mehr festzustellen. - Der linke Ventrikel war bei den GBR_5 um 11 % ($p < 0{,}01$) und bei den GBR_{10} um 41 % ($p < 0{,}001$) schwerer als bei den entsprechenden Kontrollen. Ein Unterschied diesen Ausmaßes war auch im Falle der GBR_{12} festzustellen (+ 40 %, $p < 0{,}001$). Dementsprechend war der linksventrikuläre Index der GBR_5 um 68 % ($p < 0{,}001$) und der der GBR_{10} um 74 % ($p < 0{,}001$), der der GBR_{12} aber nur noch um 57 % ($p < 0{,}001$) gegenüber den nichtoperierten Tieren erhöht. Eine signifikante Zunahme der Masse des rechten Ventrikels zeigte sich nur im 10-14 Wochen-Stadium, und zwar um 38 % ($p < 0{,}001$). Demnach war das Masseverhältnis linker Ventrikel zu rechter Ventrikel (LV/RV) 4-6 Wochen nach der Operation um 15 % ($p < 0{,}001$), weitere 4-6 Wochen später um 34 % ($p < 0{,}001$) gegenüber den entsprechenden Kontrolltieren angestiegen. Im 10-14 Wochenstadium war der Wert dieses Quotienten bei Goldblattratten und Kontrollen gleich.

Der systolische Blutdruck der GBR_5 lag bei 198 $\pm$ 27 mmHg, der der GBR_{10} bei 173 $\pm$ 33 mmHg und der der GBR_{12} bei 179 $\pm$ 30 mmHg. Die Kontrollwerte betrugen durchschnittlich 110 mmHg.

3.2.2 LÖSLICHES PROTEIN IM MYOKARD DES LINKEN VENTRIKELS (Tab.2, S.126/127)

Das Gewebe des linken Ventrikels der Goldblattratten enthielt 4-6 Wochen postoperativ 9 % weniger lösliches Protein als das der entsprechenden Kontrolltiere ($p < 0,001$). Auch 8-12 Wochen nach der Operation wiesen Kontrollen und Goldblattratten prozentual noch dieselbe Differenz auf ($p < 0,001$); sie erhöhte sich im 10-14 Wochen-Stadium auf 12 % ($p < 0,001$). In den 4-6 Wochen zwischen den beiden ersten Untersuchungsterminen waren die Konzentrationen an löslichem Protein bei operierten wie nichtoperierten Tieren parallel um jeweils 5 % angestiegen ($p < 0,05$ für Goldblattratten und $p < 0,01$ für Kontrollen). Im Anschluß daran änderte sich diese Konzentration bei den Kontrollen nicht mehr, während sie im Goldblatt-Herzen 10-14 Wochen nach der Operation wieder auf den Wert von 4-6 Wochen postoperativ absank (-6 %; $p < 0,01$).

3.2.3 ENZYMAKTIVITÄTEN IM GEWEBE DES LINKEN VENTRIKELS

3.2.3.1 Citratsynthase(CS)-Aktivitäten (Tab.2 und 3, S.126/127 und 129)

Das CS-Aktivitätsniveau der Goldblattratten lag 4-6 Wochen postoperativ 8 % unter dem der Kontrollen ($p < 0,05$), nach weiteren 4-6 Wochen betrug die Differenz 14 % ($p < 0,001$). Es ließen sich jedoch weder zwischen den beiden hypertensiven Kollektiven (GBR_5 und GBR_{10}) noch zwischen den entsprechenden Kontrollkollektiven signifikante Unterschiede nachweisen.

Die proteinbezogene Aktivität war bei den Goldblattratten im 4-6 Wochen-Stadium um 6 % gegenüber den Kontrollen erhöht ($p < 0,05$), bei denen im 8-12 Wochen-Stadium hingegen um 5 % erniedrigt ($p < 0,05$).

3.2.3.2 Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase(HOADH)-Aktivitäten (Tab.2 und 3, S.126/127 und 129)

Die HOADH-Aktivität wurde nur für die beiden Hypertrophiestadien 4-6 und 8-12 Wochen nach der Operation bestimmt. Bei Goldblattratten lag sie generell auf einem wesentlich niedrigeren Niveau als bei den entsprechenden Kontrollen: Bei den GBR_5 machte dieser Unterschied 35 % aus ($p < 0,001$), im GBR_{10}-Stadium sogar 38 % ($p < 0,001$). Dies rührte u.a. daher, daß die Aktivität der HOADH innerhalb des betrachteten Zeitraums zwischen der 4.-6. und der 8.-12. postoperativen Woche bei normotensiven Ratten um 11 % zunahm ($p < 0,01$), bei hypertensiven aber nur etwa halb so schnell (+ 5 %) ($p < 0,05$). Im Vergleich zu den Kontrolltieren zeigte sich außerdem eine Verminderung der proteinbezogenen Aktivitäten 4-6 Wochen nach der Operation um 29 % ($p < 0,001$) und 8-12 Wochen nach der Operation um 32 % ($p < 0,001$).

3.2.3.3 Hexokinase(HK)-Aktivitäten (Tab.2 und 3, S.126/127 und 129)

Die HK_{100}-Aktivitäten lagen bei den Goldblattratten 4-6 Wochen nach der Operation um durchschnittlich 20 % ($p < 0,001$), 8-12 Wochen postoperativ um 22 % ($p < 0,001$) und 10-14 Wochen postoperativ um 14 % ($p < 0,01$) über den Aktivitäten der entsprechenden Kontrollherzen. Ähnliche Unterschiede fanden sich bei der $HK_{0,5}$-Aktivität: 4-6 Wochen postoperativ war sie um 21 % gegenüber den Kontrollwerten ($p < 0,001$) erhöht, nach 8-12 Wochen sogar um 30 % ($p < 0,001$) - die entsprechenden Werte 10-14 Wochen nach der Operation wurden nicht bestimmt. Die verschiedenen Altersstufen der Kontrolltiere differierten kaum hinsichtlich der HK_{100}- oder der $HK_{0,5}$-Aktivität.

Die Aktivitäten pro g löslichen Proteins (proteinbezogene Aktivitäten) boten ein ganz ähnliches Bild wie die auf das Gesamtgewebe bezogenen: um 33 % bzw. 29 % höhere Werte mit 0,5 mM bzw. 100 mM Glucose im Ansatz bei den GBR_5 (jeweils ($p < 0,001$), bei den GBR_{10} Differenzen von 42 % bzw. 35 % (jeweils $p < 0,001$), und bei den GBR_{12} von 32 % ($p < 0,001$) bei 100 mM Glucose (jeweils im Vergleich mit den entsprechenden Kontrollen).

Zwischen operierten und nichtoperierten Tieren bestanden 4-6 Wochen postoperativ bezüglich des Quotienten aus HK_{100} und $HK_{0,5}$ keine Unterschiede; 8-12 Wochen postoperativ hingegen war dieser Quotient bei den Goldblattratten um 5 % gegenüber den Kontrollen erniedrigt ($p < 0,001$).

3.2.3.4 Lactatdehydrogenase(LDH)-Aktivitäten
(Tab.2 und 3, S.126/127 und 129)

Im 4-6 Wochen-Stadium zeigten die Goldblattratten eine um 6 % höhere LDH_{pyr}-Aktivität (pro g Frischgewicht) als die Kontrollen ($p < 0,01$), 8-12 Wochen postoperativ war kaum mehr ein Unterschied festzustellen, und in der Phase 10-14 Wochen nach der Operation sogar eine gegenüber den Kontrollen um 7 % niedrigere Aktivität ($p < 0,05$). Dies rührte daher, daß in den Kontrollherzen die LDH_{pyr}-Aktivität im 8-12 Wochen-Stadium (KR_{10}) zwar um ca. 8 % ($p < 0,001$) höher lag als im Myokard sowohl der KR_5 als auch der KR_{12}, die LDH_{pyr}-Aktivität der operierten Tiere aber eine ganz andere Entwicklung durchmachte. Die LDH_{pyr}-Aktivität blieb nämlich im 4-6 und im 8-12 Wochen-Stadium etwa auf demselben Niveau, sank aber anschließend um ca. 14 % ab ($p < 0,01$), sodaß sie bei den GBR_{12} beträchtlich unter die Kontrollwerte zu liegen kam. Bezüglich der proteinbezogenen LDH_{pyr}-Aktivität konnte gegenüber den jeweiligen Kontrollen ein Anstieg um 17 % bei den GBR_5 ($p < 0,001$), um 10 % bei den GBR_{10} ($p < 0,001$) und um 7 % bei den GBR_{12} ermittelt werden.

Eine Bestimmung der LDH_{lac}-Aktivität wurde nur für das 4-6 Wochen-Stadium durchgeführt; der rechnerische Unterschied von 3 % zwischen operierten und nichtoperierten Tieren war statistisch nicht signifikant. Die proteinbezogene LDH_{lac}-Aktivität lag bei den Goldblattratten ebenfalls nur leicht über den Kontrollwerten (+ 7 %, $p < 0,05$).

3.2.3.5 LDH-Isoenzymverteilung (Abb.4, S.106/107 und Tab.2, S.126/127)

4-6 Wochen nach dem Operationstermin waren praktisch keine Unterschiede zwischen operierten und nichtoperierten Tieren hinsichtlich des M-Wertes festzustellen (28,2 % ± 1,6 bzw. 28,1 % ± 2,0). Das GBR_{10}-Kollektiv hingegen hatte mit 25,3 ± 1,9 % einen um 6 % höheren M-Wert aufzuweisen als die entsprechenden Kontrollen mit 23,8 ± 1,6 % ($p < 0,05$). Dies hing damit zusammen, daß vom 4-6 Wochen- zum 8-12 Wochen-Stadium der Parameter bei den Kontrollen um 15 % abnahm ($p < 0,001$), bei den Goldblattratten aber nur um 10 % ($p < 0,001$).

3.2.4 HISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN

3.2.4.1 Regionale Verteilung der Enzymaktivitäten im Myokard (Abb.5, S.109/110)

Auf den Querschnitten parallel zur Herzbasis ließen sich bei schwacher Vergrößerung (5- bis 12,5-fach) regionale Unterschiede der Anfärbeintensität weder beim Nachweis der Myofibrillar-ATPase-Aktivität nach saurer oder alkalischer Präinkubation, noch bei Anfärbungen auf SDH- oder LDH-Aktivität nachweisen. Auch bei stärkerer Vergrößerung (64- bis 200-fach) zeigten sich keine bedeutsamen Unterschiede zwischen einzelnen Fasern oder Fasergruppen in der Anfärbeintensität. Lediglich die unmittelbar subepi- und subendokardial gelegenen Schichten waren stets etwas intensiver als die übrigen angefärbt, was vermutlich auf eine gewisse Austrocknung dieser Gewebsteile während der Aufbewahrung zurückzuführen ist.

3.2.4.2 Aussehen der angefärbten Herzmuskelzellen (Abb.5, S.109-112)

In allen Präparaten war bei 160- bis 200-facher Vergrößerung eine wechselnd starke homogene Anfärbung der längs- bzw. schräggeschnittenen Muskelfasern festzustellen. Dieser "Hintergrundfärbung" überlagert fand sich unterschiedlich stark ausgeprägt eine Ausfällung der Farbstoffe in dem für Muskelzellen typischen Querstreifungsmuster (besonders deutlich in Abb.5b und 5c zu sehen). Vorwiegend in den auf SDH- und LDH-Aktivität angefärbten Präparaten ließen sich zahlreiche feinkörnige Farbstoffniederschläge ohne Beziehung zur Querstreifung beobachten (s.z.B. Abb.5e, S.111, und 5h, S.112).

Quergetroffene Myocyten konnten, wie der Schnittebene entsprechend zu erwarten war, vor allem in endo- und epikardnahen Gewebsschichten gefunden werden. Die einzelnen Querschnitte zeigten bei allen Nachweistechniken eine teilweise radiär ausgerichtete grobe Streifung oder Musterung, manchmal auch zentrale Aussparungen (Zellkerne!), insgesamt jedoch eine gleichartige Anfärbeweise.

3.2.4.3 Vergleich der Schnitte von GBR- und KR-Herzen (Abb.5, S.109-112)

Der Vergleich der Goldblatt-Herzen mit normalen Herzen ergab nur geringfügige Unterschiede: so waren die Wände der linken Goldblattventrikel natürlich dicker als die der Kontrollherzen, das gleiche galt für die einzelnen Herzmuskelzellen; man erhielt darüberhinaus den Eindruck, als seien die Muskelfasern der hypertrophierten Herzen dichter gepackt als die der Kontrollen. Die Abb.5e (S.111) und 5g (S.112) illustrieren, daß die klare Gliederung der normalen Herzmuskelzellen in "Bündel" bei den Goldblatt-Herzen stellenweise aufgehoben war: die Zellen waren unregelmäßiger angeordnet.

3.2.4.4 Anfärbung von Skelettmuskelquerschnitten auf myofibrillare ATPase-Aktivitäten (Abb.6, S.113)

Zum Vergleich wurden auch Skelettmuskelquerschnittspräparate auf Myofibrillar-ATPase-Aktivität angefärbt. Dabei ergab sich bei stärkerer Vergrößerung (64- bis 200-fach) das charakteristische Bild mit 2 Typen von Skelettmuskelfasern, von denen sich die einen mit CoS schwarz anfärbten - als Hinweis auf vorhandene ATPase-Aktivität - , die anderen den Farbstoff nur schwach oder überhaupt nicht aufnahmen.

3.3 VERSUCHE AN SCHWIMMRATTEN

3.3.1 HERZ- UND KÖRPERGEWICHTE (Tab.4, S.130)

Im Gegensatz zu den Versuchen an Goldblattratten war der linke Ventrikel der belasteten Tiere, also der Schwimmratten, etwa gleich schwer wie der der unbelasteten. Das Körpergewicht war um 8 % gegenüber den Kontrollen erniedrigt ($p < 0,05$), sodaß der Anteil des linken Ventrikels am Körpergewicht um 8 % zunahm ($p < 0,05$). Der rechte Ventrikel der trainierten Tiere war im Durchschnitt um 13 % schwerer als der der Kontrolltiere ($p < 0,05$), das Massenverhältnis linker zu rechter Ventrikel hatte demnach von 3,4 auf 3,0 , also um 11 % abgenommen ($p < 0,05$).

3.3.2 LÖSLICHES PROTEIN IM MYOKARD (Tab.5, S.131)

Bezüglich des löslichen Proteins war eine signifikante, wenn auch geringfügige Abnahme um 3 % bei den Schwimmratten gegenüber den Kontrollen festzustellen ($p < 0,05$).

3.3.3 ENZYMAKTIVITÄTEN IM GEWEBE DES LINKEN VENTRIKELS

3.3.3.1 Citratsynthase(CS)-Aktivitäten (Tab.5 und 6, S.131 und 132)

Die Untersuchungen der CS-Aktivität ergaben keine signifikanten Veränderungen beim Vergleich der Schwimmratten mit den Kontrolltieren. Auch bei der proteinbezogenen Aktivität waren Unterschiede statistisch nicht zu sichern.

3.3.3.2 Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase(HOADH)-Aktivitäten (Tab.5 und 6, S.131 und 132)

Die HOADH-Aktivität war bei den trainierten Tieren um 7 % gegenüber den Kontrollen verringert ($p < 0,05$), während die proteinbezogene HOADH-Aktivität nicht signifikant verändert war.

3.3.3.3 Hexokinase(HK)-Aktivitäten (Tab.5 und 6, S.131 und 132)

Die HK-Aktivität wies deutliche Differenzen zwischen Schwimmratten und Kontrollen auf: bei den ersteren waren die Werte bei 100 mM Glucose im Ansatz gegenüber den Kontrollen um 10 % vermindert ($p < 0,01$), bei 0,5 mM Glucose um 11 % ($p < 0,001$).

Das Niveau der proteinbezogenen $HK_{0,5}$-Aktivität im trainierten Rattenherzen lag um 7 % tiefer als das der Kontrollen ($p < 0,05$); verglich man die proteinbezogene HK_{100}-Aktivitäten der trainierten und nichttrainierten Tiere, so ergab sich ebenfalls eine Abnahme um 7 % ($p < 0,05$).

Das Verhältnis der Hexokinase-Aktivitäten bei den zwei verschiedenen Substratkonzentrationen blieb, wie sich leicht aus den obigen Angaben ersehen läßt, bei den Schwimmratten im Vergleich mit den Kontrollen unverändert.

3.3.3.4 Lactatdehydrogenase(LDH)-Aktivitäten (Tab.5 und 6, S.131 und 132)

Das Niveau der LDH_{pyr}-Aktivität lag bei den Schwimmratten um 5 % höher als bei den untrainierten Tieren ($p < 0,01$). Die Veränderungen der proteinbezogenen LDH_{pyr}-Aktivität waren nicht signifikant.

3.3.3.5 LDH-Isoenzymverteilung (Abb.7, S.115 und Tab.5, S.131)

Wie sich bereits in Vorversuchen angedeutet hatte (71), lag der M-Wert im Myokard der Schwimmratten im Durchschnitt um 7 % höher als in dem der Kontrollen ($p < 0,05$).

3.3.4 HISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN

Ganz ähnlich wie unter 3.2.4 für die linken Ventrikel der Goldblattratten beschrieben, ließen sich auch bei den Schwimmratten bei schwachen Vergrößerungen (5- bis 12,5-fach) keine Anhaltspunkte für regional unterschiedliche Aktivitäten der SDH oder Myofibrillar-ATPasen finden. Ebensowenig waren bei starken Vergrößerungen (64- bis 200-fach) auffällige Differenzen zwischen den linken Ventrikeln der Schwimm- und Kontrollratten festzustellen. Eine eingehende Beschreibung der mikroskopischen Befunde des normalen, und damit auch des trainierten Herzens findet sich unter 3.2.4. Zur Illustration sei auf die Abbildungen 5b, 5d, 5f und 5h (S.109-112) verwiesen. Die dort dargestellten Schnittpräparate von Kontrollventrikeln der Goldblattversuche entsprechen ganz denen der Schwimmratten und ihrer Kontrollen.

3.4 UNTERSUCHUNGEN AM SEPTUM SPONTANHYPERTENSIVER RATTEN

Die hypertrophierten linken Ventrikel waren um durchschnittlich 71 % schwerer als die normalen ($p < 0,001$), die hypertensiven Tiere als ganze durchschnittlich um 12 % leichter als die Kontrollen ($p < 0,05$). Dadurch erhöhte sich der Quotient aus diesen beiden Größen (linksventrikulärer Index) um 81 % ($p < 0,001$). Da auch das Gewicht des rechten Ventrikels um 50 % über dem Kontrollwert lag ($p < 0,01$), stieg das Gewichtsverhältnis des linken zum rechten Ventrikel nur in nichtsignifikanter Weise um 13 % (Tab.7, S.133).

Es wurde sowohl die LDH_{pyr}-, als auch die LDH_{lac}-Aktivität bestimmt. In keinem Falle ergaben sich statistisch signifikante Differenzen zwischen hypertensiven und normotensiven Tieren. Die Auswertung der PAA-Gel-Elektrophorese zeigte bei den hypertrophierten Herzen zwar eine Veränderung um 7 % hin zu einem höheren M-Wert; die statistische Überprüfung ergab aber, daß dieser Unterschied nicht signifikant war (Abb.8, S.117 und Tab.8, S.133).

3.5 VERSUCHE AN JUNGRATTEN

3.5.1 HERZ- UND KÖRPERGEWICHTE (Tab.9, S.134)

Die zunächst schnelle, später sich verlangsamende Zunahme von Körper- und Herzgewicht ist in Tab.9 (S.134) dargestellt, ebenso wie sich das Verhältnis des Gewichtes des linken Ventrikels zum Körpergewicht in den ersten Lebenswochen änderte (71).

3.5.2 LÖSLICHES PROTEIN IM HERZMUSKELGEWEBE (Tab.9, S.134)

Das linksventrikuläre Myokard einer neugeborenen Ratte enthielt durchschnittlich 2,6 Gewichts-% an löslichem Protein (bezogen auf das Frischgewicht). Am Ende der 2.Woche war dieser Wert auf 4,8 Gewichts-% angestiegen, und lag bei den ausgewachsenen Ratten schließlich bei 5,0 Gewichts-%, also auf einem fast doppelt so hohen Niveau als bei den Neugeborenen (71).

3.5.3 ENZYMAKTIVITÄTEN IM MYOKARD

3.5.3.1 Hexokinase(HK_{100})-Aktivitäten (Abb.9, S.118)

Bei der HK_{100}-Aktivität war nach einem initialen Anstieg während der ersten Woche um 13 % ein langsamer, aber kontinuierlicher Abfall zu verzeichnen. Im Myokard der erwachsenen Ratten lag die Aktivität leicht unter der der neugeborenen. Pro g löslichen Proteins folgte die HK_{100}-Aktivität einer nach unten gerichteten Entwicklung, die besonders während der ersten 2 Wochen ausgeprägt war. Das Erwachsenenmyokard wies im Durchschnitt eine um 57 % niedrigere proteinbezogene Aktivität auf als der Neugeborenenventrikel.

3.5.3.2 Lactatdehydrogenase(LDH)-Aktivitäten (Abb.9, S.118)

Die Aktivität der LDH_{pyr} pro Masseneinheit Myokard nahm im Verlaufe der extrauterinen Entwicklung kontinuierlich zu und lag bei der erwachsenen Ratte um 95 % höher als bei der neugeborenen. Bezogen auf die jeweils vorliegende Konzentration an löslichem Protein (proteinbezogene Aktivität) fiel die LDH-Aktivität während der ersten 2 Wochen um insgesamt 27 % ab, um anschließend zunächst rasch, später erheblich langsamer auf einen Wert anzusteigen, der nur geringfügig über dem der Neugeborenen lag.

3.5.3.3 LDH-Isoenzymverteilung (Abb.10, 11 und 12, S.120-123)

Im Neugeborenenmyokard dominierte das LDH-Isoenzym M_3H, das nächst aktive war M_2H_2 (Abb.10a, S.120). Alle anderen Isoenzyme trugen zusammen nur weniger als ein Drittel zur Gesamt-LDH_{lac}-Aktivität bei. Im Verlaufe der weiteren Entwicklung verschob sich das Muster in Richtung auf ein Überwiegen der anodischen Isoenzyme (Abb.10, S.120-122), sodaß bei ausgewachsenen Ratten auf die einzelnen Isoenzyme schließlich folgende Anteile der LDH_{lac}-Gesamtaktivität entfielen:

H_4 35 %, MH_3 42 %, M_2H_2 19 %, M_3H 4 % und M_4 1 %.

Diese Entwicklung spiegelte sich auch in dem Beitrag zur LDH_{lac}-Gesamtaktivität wider, der auf die M-Untereinheiten zurückzuführen war: beim Neugeborenen waren es 60 %, nach einer Woche 47 %, nach zwei Wochen 36 %, nach 12-14 Wochen 28 % und bei erwachsenen Ratten (16-20 Wochen alt) nur noch 24 %, d.h. weniger als die Hälfte des Ausgangswertes (Abb.11, S.122). Dementsprechend fand sich eine Verschiebung des Pyruvat-Substratoptimums der LDH_{pyr}-Reaktion hin zu niedrigeren Konzentrationen (Abb.12, S.123 und 2.2.2.6a, S.25).

4. DISKUSSION

4.1 GRUNDLEGENDE VORBEMERKUNGEN

Von den verschiedenen Meßmethoden und Tiermodellen, über die in dieser Arbeit berichtet wurde, waren keine grundsätzlich neu; wo Abwandlungen vorgenommen werden mußten, handelte es sich nur um geringfügige Veränderungen. Eine eingehende Diskussion der Methoden selbst erübrigt sich daher. Vor einer detaillierten Besprechung der Resultate dieser Untersuchung soll aber noch kurz auf die Frage eingegangen werden, welche Aussagekraft denn Versuchsergebnissen, wie sie hier vorgetragen wurden, überhaupt zukommen kann.

Alle Enzymmoleküle liegen im Herzmuskel ja in einer bestimmten Mikroumgebung vor, deren einzelne Faktoren einen mehr oder weniger bedeutsamen Einfluß auf die aktuelle katalytische Aktivität der Enzyme ausüben (58, 66, 128, 152). Da alle diese Faktoren bei der Aufarbeitung des Gewebes entweder ganz beseitigt oder "wegverdünnt" werden, entsprechen die Bedingungen, unter welchen eine Enzymaktivität in der Küvette bestimmt wird, nicht mehr den natürlichen, unter denen das Enzym im intakten Organ arbeitet (137). Die einzige Aussage, die dem Experimentator noch möglich ist, bezieht sich auf eine Aktivität unter Bedingungen, die ihm optimal erscheinen, jedenfalls insoweit er den Einfluß bestimmter Ionen- und Metabilitenkonzentrationen beurteilen kann. Weniger gilt dies für histochemische Techniken, weil hier die Mikroumgebung in stärkerem Maße erhalten bleibt. Um überhaupt irgendwelche Schlüsse auf das Verhalten in vivo ziehen zu können, muß hypothetisch angenommen werden, daß den Aktivitätsunterschieden, die bei einem bestimmten Enzym von einem Organismus bzw. Organ zum anderen in vitro beobachtet werden können, parallele Unterschiede im intakten Organismus bzw. Organ entsprechen. PETTE und DÖLKEN (117) haben daher mit Recht darauf hingewiesen, daß eine sinnvolle Interpretation von Enzymaktivitätsmessungen nur im Vergleich mit anderen

gleichartigen möglich ist. Strenggenommen gilt selbst dies aber auch nur dann, wenn davon ausgegangen werden kann, daß in den Organen, deren Enzymbesatz verglichen wird, die Bedingungen, unter denen die betrachteten Enzyme arbeiten, auch wirklich vergleichbar sind. Dies ist freilich dort zunächst einmal in Frage zu stellen, wo pathologisch veränderte mit normalen Geweben verglichen werden. Als Beispiele für derartige variable Bedingungen, unter denen Enzyme arbeiten, seien die Untersuchungen von VIHERT und POZDYUNINA (148), REILLY and COOKSEY (124), und FIZEL und FIZELOVA (36) erwähnt, die im hypertrophierten Myokard im Vergleich mit Kontrolltieren je nach Stadium unterschiedliche Konzentrationsveränderungen verschiedener Elektrolyte und organischer Substanzen fanden. Die Arbeiten von HULTIN (58) über LDH und von TUTTLE und WILSON (144) über HK weisen exemplarisch Einflüsse zellulärer Strukturen auf die Aktivitäten bestimmter Enzyme nach, was gerade dann bedeutsam wird, wenn sich im Rahmen etwa eines pathologischen Prozesses auch die submikroskopische Morphologie eines Organs verändert.

Es besteht also kein Zweifel, daß Enzymaktivitätsbestimmungen nur einen kleinen Aspekt eines Stoffwechselgeschehens ausleuchten können. Zahlreiche Untersuchungen biochemischer, morphologischer und mechanischer Art können im Falle des Herzens weiterhelfen, sind aber ihrerseits wieder Beschränkungen bezüglich der Interpretation unterworfen. - In der nun folgenden Diskussion soll versucht werden, möglichst viele Untersuchungen aus der Literatur zu den eigenen in Beziehung zu setzen; man sollte sich jedoch nicht über die beschränkte Aussagekraft hinwegtäuschen.

4.2 ANMERKUNGEN ZU DEN VERSUCHEN MIT GOLDBLATTRATTEN

Die Goldblattratten des frühesten untersuchten Stadiums und die entsprechenden Kontrollen waren zum Untersuchungszeitpunkt ca. 10-12 Wochen alt und damit noch in der Wachstumsphase. Es muß daher davon ausgegangen werden, daß sich bei diesen hypertensiven Tieren wachstumsbedingte Vorgänge und Veränderungen infolge der Operation noch überlagern, was bei der Interpretation der Ergebnisse stets im Auge behalten werden muß. - Im übrigen siehe auch die Hinweise unter 3.1 (S.36).

4.2.1 ZU DEN VERÄNDERUNGEN DER KÖRPER- UND HERZTEILGEWICHTE

Die Daten der Tab.1 (S.125) zeigen, daß das Körpergewicht der Goldblattratten in den frühen Stadien wesentlich stärker hinter den Kontrollwerten zurückblieb, als dies später der Fall war. Es ist zu vermuten, daß die metabolischen Störungen und Anpassungsleistungen im Gefolge der Operation zu einer Wachstumsverzögerung führten. Erst in den späteren Phasen der Adaptation holten die operierten Tiere allmählich auf, so daß im spätesten untersuchten Stadium hinsichtlich des Körpergewichts bereits keine signifikanten Unterschiede mehr zwischen hypertensiven und normotensiven Tieren bestanden.

Im Gegensatz zu zahlreichen Untersuchungen, bei denen etwa Aortenstenose oder -insuffizienz zu einer akuten Mehrbelastung führten (25, 59, 124, 126, 164), entwickelte sich die Hypertrophie des linken Ventrikels bei den eigenen Versuchstieren nur langsam (Tab.1, S.125). Der Vergleich mit anderen Versuchsreihen am selben Hypertoniemodell zeigt, daß sich Geschwindigkeit wie Ausmaß einer Hypertrophieentwicklung sehr wohl auf die Ergebnisse auswirken, die zu einem bestimmten Zeitpunkt nach der Operation erhalten werden.

Das Gewicht des rechten Ventrikels unterschied sich bei den Goldblattkollektiven GBR_5 und GBR_{10} nicht signifikant von den Kontrollwerten (Tab.1, S.125), was auch nach dem gegenwärtigen Verständnis der Pathophysiologie des renalen Hypertonus - der kleine Kreislauf ist nicht beteiligt - zu erwarten war. Bemerkenswerterweise lag jedoch das Gewicht dieses Herzteils bei den Goldblattratten des spätesten untersuchten Stadiums (GBR_{12}) um 38 % über dem Kontrollwert, hatte demnach fast proportional zum linken Ventrikel an Gewicht zugenommen. Ähnliche Beobachtungen, allerdings in einem noch späteren Goldblatt-Stadium, machte MEDUGORAC (88). Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß MEERSON (95) und WIKMAN-COFFELT und MASON (156) bei Linksherzhypertrophie auch im rechten Ventrikel Hinweise auf veränderte biochemische wie mechanische Funktion fanden, und zwar im Sinne einer Verbesserung der Leistungsfähigkeit. Darüberhinaus ist es denkbar, daß sich in späten Stadien der chronischen Linksherzüberlastung zusätzlich eine Belastung des rechten Ventrikels infolge Rückstauung in den kleinen Kreislauf entwickelt hat.

4.2.2 ZUR KONZENTRATION DES LÖSLICHEN PROTEINS IM MYOKARD

Alle Enzyme, deren Aktivitäten im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen bestimmt wurden, liegen entweder im Zytosol oder in der Mitochondrienmatrix in gelöster Form vor. Um auch globale Veränderungen der Eiweißkörper dieser Zellkompartimente erfassen zu können, wurde der Gehalt des löslichen Proteins pro Masseneinheit Myokardgewebe bestimmt.

Die Konzentration der löslichen Proteine im Herzmuskelgewebe war in sämtlichen Hypertrophiestadien um 9-12 % gegenüber den Kontrollen vermindert (Tab.2, S.126/127). Dies bedeutet, daß die Entwicklung der myokardialen Proteinkonzentration in Goldblattratten und Kontrollen etwa parallel verlief.

Unmittelbar nach Beginn einer anhaltenden linksventrikulären Überlastung steigt die Proteinsynthese im Myokard der linken Kammer an, insbesondere, was myofibrilläre, aber auch, was andere Proteine betrifft (Literatur s. in den Übersichtsarbeiten 1, 83, 120, 134, 156, 165). Inwieweit sich auch der Proteinabbau verändert, ist noch Gegenstand der Diskussion (165). Jedenfalls normalisiert sich die Proteinsynthese wieder im weiteren Verlaufe der Adaptation an die neuen hämodynamischen Verhältnisse (120, 134, 142). Der Anteil der Myofibrillen am Zellvolumen ist dann aber bereits überproportional gewachsen bzw. ihre Konzentration im hypertrophierten Myokard höher als im normalen (s. z.B. 87, 93, 119, 153). Bleiben nun aber Wasser- und Nichtproteinanteil bei Goldblattherzen und Kontrollen die gleichen (93), so muß zwangsläufig der Gehalt an anderen Zellbestandteilen, vor allem aber an löslichen Proteinen abnehmen. Ein Vergleich der eigenen Ergebnisse mit den bei MEDUGORAC und JACOB (93) angeführten Daten stützt die Annahme einer Art Verdrängung des löslichen Anteils der zellulären Proteine durch die Myofibrillen.

4.2.3 ZUR FRAGE MITOCHONDRIALER FUNKTIONSÄNDERUNGEN

Im Verlaufe der Entwicklung einer Goldblatthypertrophie nimmt der Anteil der Mitochondrien am Zellvolumen allmählich ab, zum großen Teil erklärbar durch die erwähnte starke Vermehrung der myofibrillären Proteine in den Myozyten (88, 154). Andere Untersuchungen (25, 121, 148) zeigen, daß Veränderungen der Mitochondrienmasse, -größe und -zahl sowie des mitochondrialen Proteins offenbar stark vom jeweiligen Hypertrophiemodell abhängen. Alterationen der Mitochondrienstruktur scheinen jedoch generell wenigstens in späteren Stadien aufzutreten und werden als Schäden interpretiert (84, 100, 153); diese können zudem offenbar von Funktionsänderungen begleitet werden, z.B. den Ca^{++}-Transport (132) oder die O_2-Utilisation betreffend (102, 160).

4.2.3.1 Citratsynthase (CS)

Die Citratsynthase ist ein Enzym, das im Citratzyklus, dem zentralen Stoffwechselweg jeder Zelle, eine Schlüsselrolle einnimmt (152). Ihre Aktivität ließ im Verlaufe der Entwicklung der Goldblatthypertrophie eindeutig eine abnehmende Tendenz erkennen, und zwar unabhängig davon, ob sie auf das myokardiale Frischgewicht oder das lösliche Protein bezogen war. Im Gegensatz dazu blieben die Kontrollwerte auf etwa konstantem Niveau, d.h. altersbedingte Aktivitätsunterschiede waren nicht zu erkennen (Tab.2 und 3, S.126/127 und 129).

Diese Daten lassen sich - in einem ersten Ansatz - wenigstens teilweise erklären mit einer Zunahme des Myofibrillengehalts der hypertrophierenden Herzmuskelzellen, begleitet von einer Abnahme des Mitochondrienanteils am Zellvolumen (93, 154, 161). Nimmt man nun an,

die Mitochondrien oder auch nur die CS seien von diesem "Verdrängungsvorgang" zu Beginn der Hypertrophieentwicklung noch weniger betroffen als andere lösliche Proteine, so ergeben sich in den initialen Hypertrophiestadien (etwa der GBR_5-Phase entsprechend) qualitativ gerade die oben erwähnten Verhältnisse: die proteinbezogene CS-Aktivität nimmt gegenüber den Kontrollwerten zu, während gleichzeitig die auf das Frischgewicht bezogene Aktivität einen erniedrigten Wert aufweist. Der weitere Verlauf der CS-Aktivität läßt sich allerdings mit diesem Modell nicht mehr erklären; hier müssen Überlegungen in anderen Richtungen einsetzen.

Eine bedeutende, wenn auch nicht die alleinige Funktion der Mitochondrien (s.u.) und damit auch des Citratzyklus ist die Bereitstellung von Energie für die Myofibrillentätigkeit. Die Aktivität der Actomyosin-ATPase, bezogen auf das Frischgewicht des linken Ventrikels, sinkt mit zunehmender Entwicklung der Goldblatt-Hypertrophie progressiv gegenüber den Werten der gleichaltrigen Kontrolltiere ab +); zudem verändert sich in ganz demselben Sinne die maximale Verkürzungsgeschwindigkeit v_{max} des isolierten Herzmuskel-Trabekels (93). Alle drei erwähnten Parameter: v_{max}, die Actomyosin-ATPase und die korrespondierende CS-Aktivität, zeigen also parallele Tendenzen. Es liegt daher nahe zu vermuten, daß zwischen dem Abbau der ATP-Spaltungskapazität auf Seiten der kontraktilen Elemente und der reduzierten v_{max} einerseits und der abnehmenden ATP-Bildungskapazität auf Seiten des Citratzyklus bzw. der Mitochondrien andererseits ein Zusammenhang besteht.

+) Es soll hier nur die Tendenz der Aktivitätsentwicklung herausgestellt werden, nicht das exakte Ausmaß. Auf die Problematik der quantitativen Aussagen über Myofibrillar-ATPase-Aktivitäten wird noch weiter unten (4.2.5 und 4.3.5) eingegangen.

Interessant ist in dieser Hinsicht die Vermutung von MÜLLER (105), daß die beiden Mitochondrienpopulationen in der Muskelzelle, die subsarkolemmale und die interfibrilläre, unterschiedliche Aufgaben wahrnehmen: die ersteren sollen vor allem den Substrattransport durch die Zellmembran sicherstellen, die letzteren vornehmlich die Energie für den Kontraktionsvorgang liefern. Untersuchungen von PALMER et al. (113) zeigten außerdem, daß die CS-Aktivität der subsarkolemmalen Mitochondrien geringer ist als die der interfibrillären. Trifft die MÜLLERsche Hypothese zu und verschiebt sich die Verteilung der Mitochondrien bei den Goldblattratten allmählich zuungunsten der interfibrillären, so würde daraus eine fallende Tendenz der CS-Aktivität des Goldblattherzens gegenüber den Kontrollen wie auch eine Verminderung der auf das Frischgewicht bezogenen absoluten Aktivitätswerte resultieren, was ja ganz den obigen Befunden entspräche. Eine andere mögliche Deutung im Rahmen dieses Erklärungsansatzes wäre die, daß nur die CS-Aktivität der interfibrillären Mitochondrien mit der Zeit absinkt - etwa als Folge verlangsamter Substratanlieferung bei verlängerten Diffusionsstrecken, wie sie in der hypertrophierten Myokardzelle vorkommen müssen.

Schließlich macht DOWELL (27) auf eine dritte Interpretationsmöglichkeit aufmerksam: er fand im subendokardialen Gewebe des linken Ventrikels bei aortenstenosierten Ratten eine stark verminderte CS-Aktivität. HOLTZ et al. (53) haben am Beispiel der Aortenstenose beim Hund ermittelt, daß bei körperlicher Belastung eben diese Myokardschichten im hypertrophierten Herzen eine schlechtere Durchblutung aufweisen als im normalen. Zudem war die subendokardiale Koronarreserve der druckbelasteten Herzen geringer als die der Kontrollventrikel (vgl. auch 38). MEDUGORAC (91) und BING et al. (14) haben weiterhin darauf hingewiesen, daß in subendokardialen HM-Schichten spontanhypertensiver bzw. aortenstenosierter Ratten in nicht zu

weit fortgeschrittenen Stadien die Kollagen- und damit die Bindegewebskonzentration wesentlich stärker als im subepikardialen Gewebe ansteigt. Sicherlich treten auch bei der Goldblatt-Hypertrophie mit der Zeit ähnliche Entwicklungen ein - teilweise wohl als Folge einer hypertensiven Vaskulopathie (61). Diese Beobachtungen lassen vermuten, daß nach länger bestehendem renalem Hypertonus im Myokard eine eingeschränkte Durchblutungsreserve mit sekundär verminderter Stoffwechselkapazität besteht, vornehmlich oder besonders ausgeprägt in subendokardialen Schichten.

Keine der aufgeführten Deutungen schließt die anderen aus, ja, es ist durchaus denkbar, daß alle diskutierten Mechanismen zusammenwirken; so könnte eine Veränderung der Mitochondrien eine Folge sowohl verschlechterter Durchblutungsverhältnisse - und sei es nur bei Belastung - als auch der Verdrängung durch Myofibrillen sein.

4.2.3.2 Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase (HOADH)

Die folgende Interpretation der Ergebnisse der HOADH-Aktivitätsbestimmungen geht von der Annahme aus, daß mit der beschriebenen Methode (2.2.2.4, S.23) tatsächlich alle relevante Aktivität im untersuchten Gewebe erfaßt werden konnte. Dies ist jedoch keine Selbstverständlichkeit, wie bereits anläßlich der Charakterisierung dieses Enzyms (1.3.2, S.8) angedeutet wurde: liegen nämlich auch in den Herzmitochondrien der Ratte die von MIDDLETON und EL-FAKHRI (30) an Lebermitochondrien beschriebenen zwei verschiedenen HOADH-Typen vor, so sind damit Aussagekraft wie Deutungsmöglichkeiten der dargestellten Ergebnisse wesentlich eingeschränkt. Da bislang aber noch keine derartigen Informationen vorliegen, erscheint es gerechtfertigt, von obiger Annahme auszugehen.

Im Vergleich mit den jeweiligen Kontrolltieren fand sich in beiden untersuchten Hypertrophiestadien ein Abfall der proteinbezogenen Aktivität der HOADH um jeweils etwa 30 % (Tab.3, S.129). Noch deutlichere Unterschiede zeigten die auf das Frischgewicht bezogenen Werte (Tab.2, S.126/127). Darüberhinaus blieb die altersbedingte leichte Zunahme der HOADH-Aktivität, die bei den normotensiven Kollektiven beobachtet wurde, bei den Goldblattratten aus (Tab.2 und 3, S.126/127 und 129). Es ist denkbar, daß diese Daten Ausdruck einer verminderten Fettsäureoxidationskapazität im hypertrophierten Myokard sind, d.h. einer Situation, in der im Falle äußerster Beanspruchung des energieliefernden Stoffwechsels andere Substratabbauwege als die Fettsäureoxidation zur Aufrechterhaltung adäquater Energiegewinnung beschritten werden müssen. Ein Zusammenhang mit den schon erwähnten mitochondrialen Funktions- und Strukturänderungen (s.4.2.3, S.59) kann dabei nicht ausgeschlossen werden. Im Einklang mit dieser Interpretation stehen die Ergebnisse mehrerer Untersuchungen an anderen Hypertrophiemodellen: BARAKAT et al. (9) beschrieben beim kardiomyopathischen Hamster eine stark herabgesetzte ß-Fettsäure-Oxidation bei stark verminderter HOADH, obwohl die Acyl-Carnitin-Transferase - wichtiger Regulationsort der ß-Fettsäure-Oxidation (143) - auf normalem Niveau geblieben war. REVIS und CAMERON (127) zeigten, daß schon bald nach Anlegen einer Aortenstenose bei Hasen vermehrt Lipidtropfen in den Herzmuskelzellen und ein Anstieg der Konzentration verschiedener Lipide bei verminderter Carnitinkonzentration im Myokard beobachtet werden können. Diese Veränderungen wurden von den zitierten Autoren als Hinweise auf eine herabgesetzte Fähigkeit des Herzens angesehen, freie Fettsäuren abzubauen.

Eine beeinträchtigte Fettsäure-Oxidationskapazität braucht allerdings nicht notwendigerweise zu einer Störung der Energiegewinnung führen, jedenfalls solange nicht, wie als Ausgleich andere Stoffwechselwege verstärkt be-

schritten werden können (s.4.2.4.1, S.65). Dieser Ausweg steht aber nur mit Einschränkung offen, da bei der Energiegewinnung im Herzen die Fettsäuren wahrscheinlich nicht in beliebigem Ausmaß durch ein anderes Substrat ersetzt werden können: zum einen hängt nämlich der Anteil der Fettsäure-Oxidation am gesamten Energiegewinn vom Substratangebot ab (d.h. letztlich von der Lipidkonzentration im Blut) (19, 70); zum anderen wird der Lipidverbrauch von der Versorgung mit anderen Substraten, etwa Glucose oder Lactat, wesentlich beeinflußt (78). Trifft es aber tatsächlich zu, daß der Fettsäureabbau im hypertrophierten Goldblattherzen merklich beeinträchtigt ist, so könnte dies noch zusätzliche negative Auswirkungen auf die Funktion anderer Enzymsysteme haben. HSU und POWELL (57) wiesen nämlich nach, daß die CS von Oleoyl-CoA gehemmt wird. Eine eingeschränkte Fettsäure-Oxidationskapazität könnte daher über eine Anhäufung freier Fettsäuren auch die Funktion des Citratzyklus beeinträchtigen.

Die fallende Tendenz der CS- und die starke Verminderung der HOADH-Aktivität sowie die möglichen Wechselbeziehungen zwischen diesen beiden Vorgängen sind wohl als Hinweis auf eine eingeschränkte metabolische Leistungsfähigkeit des linksventrikulären Myokards der Goldblattratten zu interpretieren. Den von WENDT-GALLITELLI et al. (153) beschriebenen Veränderungen der Mitochondrien des hypertrophierten Goldblattherzens dürfte demnach ein schon frühzeitig einsetzender Abbau bestimmter wichtiger Enzyme entsprechen; setzt sich dieser weiter fort, muß dies mit der Zeit zwangsläufig zu einer herabgesetzten funktionellen Leistungsfähigkeit des Myokards führen.

4.2.4 ENZYME DES KOHLEHYDRATSTOFFWECHSELS

4.2.4.1 Hexokinase (HK)

Soll Glucose aus externen Quellen in den zelleigenen Stoffwechsel eingeschleust werden, muß die HK sie zuvor unter ATP-Spaltung zu Glucose-6-Phosphat phosphorylieren. Dadurch erst kann sie in der Glykolyse, im Pentosephosphatshunt und zur Glykogensynthese verwertet werden (Abb.1, S.103). Die HK-Reaktion stellt also gleichsam den Angelpunkt des zellulären Glucosestoffwechsels dar und scheint hinsichtlich der Aktivitätsregulation eng mit anderen Schlüsselenzymen verknüpft zu sein (146).

In den Versuchen mit Goldblattratten zeigte sich gegenüber den Kontrollen in allen Hypertrophiestadien eine ausgeprägte Aktivitätszunahme der löslichen HK. Dabei waren die prozentualen Differenzen zwischen operierten und nichtoperierten Tieren in allen Stadien ungefähr gleich groß, mit Ausnahme der $HK_{0,5}$, die bei den GBR_{10} besonders stark angestiegen war (Tab.2 und 3, S.126/127 und 129).

Untersuchungen an anderen Hypertrophiemodellen konnten - von Ausnahmen abgesehen (25, 76) - im allgemeinen einen gesteigerten Kohlehydrat-Stoffwechsel im stark belasteten Myokard nachweisen, und zwar sowohl bei Glykolyse und Glykogensynthese (35, 73, 96) als auch bei bestimmten Enzymaktivitäten des Pentosephosphatshunt (99, 147). Letzteres hängt wahrscheinlich auch mit der erhöhten RNA-Synthese während der Phase der Hypertrophieentwicklung zusammen (99, 166). Man geht daher wohl nicht fehl in der Annahme, daß auch der linke Ventrikel einer Goldblattratte einen erhöhten Kohlehydrat-Umsatz aufweist und dieser seinerseits mit der erwähnten gesteigerten Aktivität der löslichen HK in Zusammenhang steht. Dies um so mehr, als damit ja eine wenigstens teilweise Kompensationsmöglichkeit für die herabgesetzte Fettsäure-Oxidations-Kapazität gegeben wäre (s.4.2.3.2, S.63).

Darüberhinaus deuten die Befunde von MEERSON et al. (97) an aortenstenosierten Ratten auf eine verlangsamt ablaufende Glykogenmobilisierung im druckbelasteten Ventrikel hin, wahrscheinlich aufgrund einer erniedrigten Phosphorylase-aktivität. Der hypertrophierte Herzmuskel müßte dadurch im Bedarfsfall vermehrt auf externe Glucose zurückgreifen, was die erhöhte HK-Aktivität ebenfalls plausibel machte.

Eine Steigerung der gelösten HK-Aktivität läßt sich im Prinzip auf zwei verschiedene Mechanismen zurückführen: einmal die Neusynthese zusätzlicher HK-Moleküle, zum anderen die Freisetzung schon vorhandener partikelgebundener HK, etwa als Folge von Veränderungen der bindenden Strukturen (vgl. 4.2.3, S.59). Die zweite Möglichkeit erfordert allerdings, soll tatsächlich eine Anhebung der HK-Gesamtaktivität in der Zelle erfolgen, ihrerseits eine zusätzliche Neusynthese. Der Grund hierfür liegt in der geringeren physiologischen Aktivität der gelösten gegenüber der gebundenen HK-Form (s.1.3.3, S.9). An diesem Punkt der Diskussion wären also detaillierte Informationen über die partikuläre HK-Aktivität im hypertrophierten Herzen erforderlich.

Der Quotient aus den gelösten HK-Aktivitäten bei 100 mM und 0,5 mM Glucose im Ansatz kann als Indikator für Veränderungen des Beitrags des Isoenzyms III zur HK-Gesamtaktivität herangezogen werden. Die HK III wird nämlich - im Gegensatz zu HK I und HK II - bei 100 mM Glucose gehemmt und liegt als einziges der in der Herzmuskelzelle vorkommenden Hexokinasen ausschließlich in gelöstem Zustand vor (65, 67, 106, 145). Eine Abnahme des Quotienten $HK_{100}/HK_{0,5}$ würde also auf einen Anstieg des HK III-Beitrags schließen lassen, eine Zunahme auf eine Verminderung.

Im frühesten untersuchten Hochdruckstadium (GBR_5) ließen sich keine Hinweise auf Isoenzymverschiebungen finden; 8-12 Wochen nach der Operation (GBR_{10}) aber war der Quotient $HK_{100}/HK_{0,5}$ im Goldblattherzen sowohl gegenüber den Werten 4-6 Wochen postoperativ (GBR_5) als auch gegenüber den der

gleichaltrigen Kontrollen (KR_{10}) herabgesetzt (Tab.2, S.126/127). Dies ist ohne Zweifel als Ausdruck einer relativen Vermehrung des Anteils der HK III an der HK-Gesamtaktivität aufzufassen. Da dieses Isoenzym im Herzmuskel normalerweise aber nur in Spuren vorkommt (65, 67, 106), dürfte die beobachtete Quotientenabnahme auf eine beträchtliche relative Vermehrung der HK III hinweisen.

Die Frage, ob die drei HK-Isoenzyme des Myokards unterschiedliche funktionelle Bedeutung haben, ist bis heute nicht restlos geklärt (es sprechen allerdings verschiedene Befunde für eine gewisse Aufgabenteilung, s. dazu (67) und (106)). Sicher ist aber, daß die HK III vor allem im Bereich physiologischer Glucosekonzentrationen gehemmt wird, bei geringerem Substratangebot aber eine höhere Aktivität aufweist als die beiden anderen Hexokinasen (145). Erst im Lichte dieser Fakten läßt sich die relative Zunahme der HK III als ein sinnvoller Anpassungsmechanismus interpretieren: bei verschlechterter Substratversorgung des Herzmuskelgewebes (s.4.2.3.1, S.61/62) fällt die Glucosekonzentration in den einzelnen Myocyten ab; dieser Situation versucht sich die Zelle durch Bereitstellung eines Enzyms anzupassen, das auch bei geringeren Substratkonzentrationen noch ausreichend schnell Glucose-6-Phosphat liefert.

4.2.4.2 Lactatdehydrogenase (LDH)

Die LDH katalysiert sowohl die Oxidation von Lactat zu Pyruvat als auch die umgekehrte Reaktion von Pyruvat zu Lactat unter Bildung oder Verbrauch eines Mols $NADH_2$ pro Mol Lactat, je nach den aktuellen Erfordernissen der Zelle.

In der Literatur der letzten zwei Jahrzehnte, die sich mit der Rolle dieses Enzyms im Stoffwechsel des belasteten Herzmuskels beschäftigte, finden sich zahlreiche Hin-

weise darauf, daß ein verminderter Sauerstoffgehalt des Blutes nach einiger Zeit meist von einem LDH-Aktivitätsanstieg und einer relativen Vermehrung der M-Untereinheiten begleitet wird (z.B. 8, 115, 164). Diese Ergebnisse, wie auch die Beobachtung, daß Gewebe, die vornehmlich unter aeroben Bedingungen arbeiten, eine Tendenz zu höheren Anteilen der H-Untereinheiten an der Gesamtaktivität aufweisen, gaben Anlaß zu der Vermutung, daß die erwähnten Veränderungen der Gesamtaktivität und des Isoenzymmusters Ausdruck einer vermehrt ablaufenden anaeroben Glykolyse seien (u.a. 15, 45, 114, 134). Auch eine LDH-Aktivitätssteigerung per se ist schon mit erhöhtem anaerobem Stoffwechsel im hypertrophierten Myokard in Verbindung gebracht worden (123); es muß jedoch betont werden, daß diese Ansichten nicht unwidersprochen geblieben sind (62, 126, 164).

In den hypertrophierten Herzen der Goldblattratten war die proteinbezogene LDH-Aktivität in allen Phasen gegenüber den Kontrollwerten erhöht (Tab.3, S.129): dieser Anstieg war 4-6 Wochen nach der Operation mit + 17 % stärker ausgeprägt als 8-12 Wochen nach der Operation (+ 10 %), dort seinerseits etwas stärker als im 10-14 Wochen-Stadium (+ 7 %). Die Differenzen zwischen den aufs Frischgewicht bezogenen Aktivitätswerten ließen eine ähnliche Tendenz erkennen: bei den GBR_5 lagen sie noch um ca. 6 % über den Kontrollwerten, bei den GBR_{12} fanden sich dann erniedrigte Aktivitäten (Tab.2, S.126/127). Untersuchungen an anderen Hypertrophiemodellen konnten ähnliche Veränderungen demonstrieren (15, 27, 59, 134, 164). Im Rahmen der eigenen Untersuchungen konnte bei der LDH-Isoenzymverteilung eine zwar geringfügige, aber doch signifikante relative Vermehrung der M-Untereinheiten im 8-12 Wochen-Stadium der Goldblatthypertrophie festgestellt werden. Im frühesten untersuchten Stadium (4-6 Wochen postoperativ) war der entsprechende Wert gegenüber dem der Kontrolltiere nicht verändert.

Es leuchtet ein, daß eine derartig geringfügige Isoenzymverschiebung, wie sie bei den GBR_{10} auftrat - es kommt im wesentlichen zu einer Verminderung des Isoenzyms H_4 zugunsten der anderen - kaum infolge bedeutender metabolischer Umstellungen in der Herzmuskelzelle aufgetreten sein kann (62). Es muß jedoch bedacht werden, daß die angewandten Methoden nur die durchschnittliche Isoenzymverteilung der gesamten Masse des linken Ventrikels erfaßten. Daher ist es durchaus möglich, daß in bestimmten kleineren Arealen des Myokards infolge temporärer Sauerstoffmangelversorgung (s.o.) relativ ausgeprägte Isoenzymverschiebungen auftraten ohne jedoch die über die gesamte Ventrikelmasse gemittelte Isoenzymverteilung in größerem Ausmaße beeinflussen zu können - einfach deshalb, weil diese Myokardbezirke wegen ihres geringen Anteils an der Ventrikelmasse im Endeffekt nur wenig ins Gewicht fielen. Andererseits wäre es ebenso plausibel, diesen Isoenzymshift in Anlehnung an REVIS und CAMERON (126) gar nicht als Veränderung innerhalb der Muskelzellen selbst zu interpretieren, sondern als erstes Zeichen einer beginnenden Bindegewebsproliferation in einem fortgeschrittenen Hypertrophiestadium aufzufassen. Auch hier wiederum könnten regionale Unterschiede bestehen. Im Falle der Goldblatt-Hypertonie konnte MEDUGORAC (92, 93) in frühen Hypertrophiestadien nicht immer, in Spätstadien aber stets eine deutliche Hydroxyprolinvermehrung im Myokardgewebe beobachten. Es sollte jedoch beachtet werden, daß der Zeitpunkt, von dem ab ein derartiger Nachweis möglich wird, stark von der Operationstechnik, und damit von Geschwindigkeit und Ausmaß der Hypertrophieentwicklung abhängt (MEDUGORAC, persönliche Mitteilung; vgl. 4.2.1, S.56).

Die genannten Daten lassen erkennen, daß die LDH zu Beginn der Hypertrophieentwicklung von der Verringerung des Eiweißbestandes der Herzmuskelzelle (s.4.2.2, S.58) offenbar in geringerem Maße betroffen war als andere lösliche Proteine. Der Verdrängungseffekt der Myofibrillenzunahme

(s.4.2.2, S.58) wirkte sich demnach erst nach länger bestehendem Hypertonus auf die LDH-Aktivität aus, kann aber die initiale Zunahme (GBR_5) nicht erklären. Ebensowenig können die leichten Isoenzymverschiebungen (s.o.) für die Änderungen der Gesamtaktivität eine Rolle gespielt haben. Der Grund für die schon früh im Goldblatt-Herzen anzutreffende erhöhte Aktivität gegenüber den Kontrollen dürfte daher wahrscheinlich in Veränderungen der LDH-Funktion zu suchen sein.

So ist es nicht ausgeschlossen, daß die Steigerung der LDH-Aktivität mit dem schon in 4.2.4.1 (S.65) erwähnten erhöhten Kohlehydrat-Umsatz in den hypertrophierten Herzmuskelzellen in Zusammenhang steht.

Den Untersuchungen von KUN et al. (74) zufolge ist das zelluläre NAD^+ vermutlich indirekt über aldehydische Metaboliten an der Regulation der DNA-Transkription beteiligt, wobei Polyamine als aldehydbindende Substanzen modulierend in diesen Mechanismus eingreifen. Da diese Polyamine nicht nur in physiologisch wachsenden Geweben, sondern auch im hypertrophierenden Myokard in z.T. stark erhöhten Konzentrationen gefunden wurden (34, 131), liegt die Vermutung nahe, daß sowohl Polyamine (165) als auch - indirekt - der zelluläre NAD^+-Turnover und damit die LDH die Wachstums- und Umbauprozesse im Rahmen der Herzhypertrophie (1, 83, 120, 134, 165) wesentlich mit beeinflussen. Die allmähliche Wiederannäherung der LDH-Aktivität an die Kontrollwerte wäre dann Ausdruck einer Stabilisierung der Hypertrophie, sodaß nunmehr die Auswirkungen anderer Faktoren stärker in den Vordergrund treten könnten.

Der LDH-Gehalt des gesamten linken Ventrikels steigt im Falle der Goldblattratten um Werte zwischen 18 und 40 % gegenüber den jeweiligen Kontrollen an. Ohne Zweifel gäbe dies dem Herzen unter normalen Umständen die Möglichkeit, Lactat schneller zu oxidieren als ohne diesen Anstieg. Es ist aber kaum anzunehmen, daß dies auf ein vermehrtes

Lactatangebot aus der Peripherie zurückzuführen ist - etwa im Rahmen einer Substratinduktion. Läßt man die ja stets mögliche Erklärung beiseite, es handle sich um den Ausdruck einer metabolischen Fehlregulation, so bieten sich vor allem die folgenden zwei Erklärungsmöglichkeiten an: entweder die Bedingungen, unter denen die LDH im hypertrophierenden Herzen arbeitet, machen eine Vermehrung des Enzymbestandes erforderlich - beispielsweise könnten Elektrolytverschiebungen ihre Funktion beeinträchtigen (128) - , oder aber das Herz selbst bildet stellenweise vermehrt Lactat, das dann andernorts im Myokard beschleunigt wieder abgebaut werden muß. Letzteres wäre z.B. unter stärkerer körperlicher Belastung denkbar, wenn subendokardiale Schichten des hypertrophierten Herzens schlechter durchblutet werden (27, 38, 53) und dadurch zeitweise auf anaerobe Energiegewinnung umschalten müssen, also für die Oxidation des Lactats aus der Peripherie ausfallen. Das subepikardiale Gewebe müßte dann kompensatorisch seine Oxidationskapazität steigern. Für diese Deutung spräche, daß die kardiale LDH-Aktivität, die pro Gramm Körpergewicht für die Lactatoxidation zur Verfügung steht, im hypertrophierten Herzen um 40 bis 80 % höher liegt als im normalen. Außerdem haben Untersuchungen von DOWELL (27) gezeigt, daß im subepikardialen Herzgewebe der Ratte tatsächlich eine höhere LDH-Aktivität vorliegt als im endokardnahen, und daß dieser Unterschied bei aortenstenosierten Ratten noch akzentuiert wird.

Wie auch immer dem sei, es kommt mit Andauern des Hochdrucks zu einer fortschreitenden Abnahme der LDH-Aktivität gegenüber den Kontrollen. Dies könnte einerseits auf eine Stabilisierung der Hypertrophie hindeuten, sodaß der raumfordernde Prozeß der Myofibrillenvermehrung etwas mehr in den Vordergrund treten kann (s.o., S.70), die zellulären Arbeitsbedingungen der LDH sich verbessern (s.o.) oder die entsprechende Synthesekapazität der ein-

zelnen Myokardzelle ausgeschöpft ist. Andererseits wäre es auch möglich, daß dies Ausdruck einer sich allmählich entwickelnden Einschränkung der metabolischen Kapazität schlechthin ist, bedingt beispielsweise durch degenerative Prozesse im Rahmen einer hypertensiven Vaskulopathie (61). Auch die beobachteten Isoenzymverschiebungen in Richtung auf eine Zunahme der M-Untereinheiten (s.Abb.4, S.106/107) ließen sich damit erklären.

Aus der Diskussion der HK- und LDH-Aktivitätsänderungen läßt sich zusammenfassend das folgende hypothetische Teil-Bild des Kohlehydrat-Stoffwechsels im linken Ventrikel einer Goldblattratte skizzieren: im Frühstadium liegt ein erhöhter Durchsatz vor, bedingt etwa durch die Wachstumsvorgänge selbst oder als Kompensation für eingeschränkte andere Stoffwechselwege; in fortgeschrittenen Stadien können die beobachteten Enzymaktivitätsänderungen dann als Anzeichen einer verschlechterten Substratversorgung und einer einsetzenden Bindegewebe-Proliferation gewertet werden.

4.2.5 ZU DEN HISTOCHEMISCHEN EXPERIMENTEN

Bei der histochemischen Darstellung der SDH, der LDH und der Myofibrillar-ATPase 10-14 Wochen postoperativ waren grobe Veränderungen im hypertrophierten Myokard gegenüber dem normalen nicht festzustellen (Abb.5, S.109-112). In der Übersichtsvergrößerung zeigte sich außerdem bei allen Färbetechniken eine gleichmäßige Anfärbung des gesamten Querschnitts des linken Ventrikels, was ganz den Erwartungen entsprach (111, 123, 148). Unterschiede der Anfärbeintensität zwischen Goldblatt- und Kontrollpräparaten waren nicht zu erkennen. Die beschriebene wechselnd starke homogene Anfärbung längsgetroffener Herzmuskel-Zellen dürfte darauf zurückzuführen sein, daß die Zellen ihrem anatomischen Verlauf entsprechend bei basisparalleler Schnittführung meist schräg getroffen wurden; auch die Schnittdicke von 6 µm trägt sicher zu diesem Effekt bei.

Die teilweise radiäre Streifung der Myocytenquerschnitte läßt sich mit der Anordnung von Mitochondrien und kontraktilen Proteinen erklären.

Wie schon in 3.2.4.3 (S.44) erwähnt wurde, erschienen im mikroskopischen Präparat die Myocyten des hypertrophierten Herzens dichter gepackt, aber auch weniger klar angeordnet als in Kontrollventrikeln. Dies mag eine Folge der Hypertrophie der Einzelzelle sein, kann aber auch als Umbauvorgang gedeutet werden.

Der Reaktionsausfall bei der SDH-Reaktion wurde nach den von BRAIMBRIDGE et al. (17) eingeführten Kriterien beurteilt. Danach lassen sich 4 Grade je nach Verteilung des Farbstoffes bei starker Vergrößerung unterscheiden: Grad 0 oder Normalbefund entspricht dabei einer Farbstofflokalisation entlang der Myofibrillen, während Ausfällung in Form von Granula auf stark pathologisch veränderte Mitochondrien hindeuten soll (Grad 3); mehr oder weniger starke Granulierung wäre dann Grad 2

oder 1. Ein Vergleich mit den von dieser Arbeitsgruppe veröffentlichten Mikrophotos (23, 108) ergab, daß bei keinem der eigenen Präparate Grad 2 oder 3 nach dieser Einteilung vorlagen (Abb.5a und 5b, S.109).

Diese Tatsache, wie auch die der unveränderten Anfärbeintensität der Goldblatt-Herzen im Vergleich mit den Kontrollen ist verständlich, wenn man sich die Ergebnisse der CS-Aktivitätsbestimmungen in Erinnerung ruft: dort lagen die Veränderungen bei -5 bzw. +6 %, was auf noch relativ kleine Änderungen der Mitochondrienfunktion im Vergleich mit normotensiven Tieren schließen läßt. Nimmt man Veränderungen in ähnlicher Größenordnung für die SDH-Aktivität an, so kann man kaum offenkundige Intensitätsänderungen bei der histochemischen Nachweisreaktion erwarten.

Für die LDH-Darstellung gelten eigentlich dieselben Überlegungen. Auch hier ergab der Vergleich der hypertrophierten mit den normalen linken Ventrikeln keine Unterschiede (Abb.5c und 5d, S.110), wie nach den LDH-Aktivitätsbestimmungen im Homogenat schon zu erwarten gewesen war. Wie nämlich Tab.2 zeigt, ändert sich die LDH-Aktivität bezogen auf das Herzgewicht und damit auch auf das Herzvolumen bei den Goldblattratten im Vergleich mit den Kontrollen um maximal 10 %, sodaß selbst Aktivitätssteigerungen, die sich nur in den nicht direkt unter dem Endokard liegenden Gebieten abspielen (s.4.2.4.2, S.64), schon beträchtliche Ausmaße annehmen müssen, bevor ein Unterschied zwischen subendo- und subepikardialen Schichten im histochemischen Präparat sichtbar wird.

Auch für den ATPase-Nachweis haben BRAIMBRIDGE et al. (17) Beurteilungskriterien aufgestellt. Grad 3, also ein hochpathologischer Ausfall wäre eine klumpige Ausfällung

des CoS im Bereich der Querstreifung gewesen. Sowohl bei alkalischer wie bei saurer Präinkubation war aber das schwarze Präzipitat in den eigenen Schnitten, von der "Hintergrundfärbung" abgesehen (s.3.2.4.2, S.43), generell entlang der Querstreifung verteilt und entsprach damit dem Grad 0 (Abb.5e-5h, S.111/112). Bei schwacher Vergrößerung zeigte sich eine homogene Verteilung über das gesamte Präparat. Auch in diesem Falle gilt, daß die von MEDUGORAC (93) bestimmte Abnahme der ATPase-Aktivität pro Gramm Frischgewicht infolge des kleinen Ausmaßes (-11 % im 12-Wochen-Stadium) für das bloße Auge nicht in Erscheinung treten kann. Abgesehen davon stellt sich aber auch die Frage nach der Vergleichbarkeit der Ergebnisse histochemischer Untersuchungen mit Aktivitätsbestimmungen in der Küvette, wie sie z.B. von MEDUGORAC (93) vorgenommen wurden. Darauf wird im Abschnitt 4.3.5 noch ausführlicher einzugehen sein.

Schließlich sei noch erwähnt, daß sich im hypertrophierten Herzen der Goldblattratten weder auffallende Nekroseherde noch grobe zelluläre Strukturveränderungen fanden. Auch an aortenstenosierten Ratten konnten in einem den GBR_{10} vergleichbaren Hypertrophiestadium keine derartigen Schäden beobachtet werden (148). Für eine eindeutige Identifizierung degenerativ veränderter Myokardbezirke gibt es aber wohl auch besser geeignete Färbetechniken.

4.3 ANMERKUNGEN ZU DEN VERSUCHEN MIT SCHWIMMRATTEN

4.3.1 ZU DEN VERÄNDERUNGEN DER KÖRPER- UND HERZTEILGEWICHTE

Die Schwimmratten schwammen innerhalb von 3 Monaten insgesamt zwischen 158 und 166 Stunden (durchschnittlich 160 Stunden), während die Kontrolltiere sich ständig in ihren Käfigen bei Trockenfutter und Wasser ad libitum aufhielten. Dieser unterschiedliche "Lebensstil" spiegelt sich in den Körpergewichten der beiden Kollektive wider: Die Schwimmratten waren im Durchschnitt um 8 % leichter als die Kontrolltiere (Tab.4, S.130); dabei soll auch ein geschlechtsspezifisch wirksamer appetithemmender Effekt des körperlichen Trainings eine Rolle spielen (110).

Im Gegensatz zu den Untersuchungen an Goldblattratten, wo zu Vergleichszwecken im wesentlichen auf Berichte über andere Hypertrophiemodelle zurückgegriffen werden mußte, liegen zahlreiche Untersuchungen über den kardialen Stoffwechsel trainierter Tiere vor. Da sich jedoch, wie im weiteren gezeigt werden wird, die Veränderungen, die durch ein Training vermutlich induziert werden, in relativ engem Rahmen halten und fast jede Untersuchergruppe ihre eigenen Trainingsbedingungen gewählt hat, sind auch in diesem Falle nur vorsichtige Vergleiche der eigenen Ergebnisse mit denen anderer Autoren möglich. Insbesondere die Tatsache, daß Wachstumseffekte und die Auswirkungen des körperlichen Trainings je nach Alter der Tiere zu Versuchsbeginn mehr oder weniger lange gleichzeitig den myokardialen Stoffwechsel beeinflussen konnten, darf nicht übersehen werden.

Ohne Zweifel kommt die tägliche körperliche Anstrengung den natürlichen Lebensbedingungen der Ratten viel näher als eine "geruhsame" Lebensweise im Käfig. Daher wundert es nicht, daß die linken Ventrikel der Schwimmratten nicht schwerer waren als die der Kontrollen (Tab.4, S.130).

Im Gegensatz dazu hatte der rechte Ventrikel der trainierten Tiere gegenüber dem nichttrainierter Tiere um 13 % an Gewicht zugenommen (Tab.4, S.130). Das Gewichtsverhältnis des linken Ventrikels zum rechten sank dadurch von 3,38 auf 3,30. Möglicherweise ist die Leistungsreserve des rechten Ventrikels ohne Hypertrophie nicht so groß wie die des linken, sodaß er schon bei einer Zusatzbelastung an Masse zunehmen muß, bei der die linke Herzkammer noch keine derartige Reaktion zeigt.

Die zahlreichen Untersuchungen an schwimm- oder lauftrainierten Ratten, über die in der Literatur berichtet wird, lassen keine einheitliche Aussage über die Auswirkungen des körperlichen Trainings auf Herz- und Körpergewicht zu. Die Auswertung von 13 Arbeiten über Trainingsprogramme von mehr als 60 Stunden Gesamtdauer ergab folgendes Bild: in 6 Publikationen wurde über ein unverändertes Körpergewicht, aber erhöhtes Herzgewicht berichtet (3, 13, 51, 87, 110, 164), in einer über ein erniedrigtes Körpergewicht bei erniedrigtem Herzgewicht (163), in dreien über ein erniedrigtes Körpergewicht bei unverändertem Herzgewicht (13, 110, 116) - also die auch in der vorliegenden Untersuchung gefundene Kombination (s.Tab.4, S.130) - und in einer Arbeit über einen Anstieg sowohl des Körper- als auch des Herzgewichtes (151). Die letztzitierten Autoren fanden im übrigen eine biventrikuläre Hypertrophie, die rechts stärker als links ausgeprägt war. Die auftretenden Differenzen zwischen den einzelnen Ergebnissen sind möglicherweise auf die Art der Tierhaltung, auf Geschlecht (110) und Rasse zurückzuführen; eine vollauf befriedigende Erklärung steht jedoch aus. Insgesamt läßt sich aber sagen, daß sich mit einem Schwimmtraining von 160 h bei 2 h/Tag nicht unbedingt eine Linksherzhypertrophie induzieren läßt - eher noch, so merkwürdig dies erscheinen mag, eine Hypertrophie des rechten Ventrikels. Zwar wird gelegentlich der Herzindex (LV/KG) als Hypertrophiemaß herangezogen (14, 122, 123); es ist

jedoch zumindest im Falle der Schwimmratten fraglich, ob damit eine Hypertrophie, definiert als "Zunahme der Muskelmasse des Herzens" (56) auch wirklich erfaßt werden kann oder nicht viel mehr Veränderungen des Körperfettgehaltes und der Skelettmuskelmasse.

4.3.2 ZUR KONZENTRATION DES LÖSLICHEN PROTEINS IM MYOKARD

Aus Tab.5 (S.131) wird ersichtlich, daß die Konzentration des löslichen Proteins im linken Ventrikel bei den Schwimmratten gegenüber den Kontrollen leicht erniedrigt war. Die Differenz von 3 % ist jedoch so klein, daß es schwerfällt, ihr irgendeine Bedeutung zuzumessen. In Anlehnung an den schon in 4.2.2 (S.58) bei den Versuchen an Goldblattratten eingeführten Interpretationsansatz läßt sich vermuten, daß auch im Schwimmrattenherzen die Myofibrillen einen höheren Anteil an der Zellmasse ausmachen und die löslichen Proteine dadurch etwas abnehmen. In der Tat konnte MEDUGORAC (87) bei ähnlich trainierten Schwimmratten einen Anstieg der Konzentration der myofibrillären Proteine ermitteln, der von einer geringfügigen Abnahme der sarkoplasmatischen und stromalen Eiweißkörper begleitet war. WALPURGER und ANGER (151) erhielten nach Schwimm- wie nach Lauftraining sogar Proteinkonzentrationsverminderungen in Höhe von 14-16 %; davon war das mitochondriale Protein aber kaum betroffen, was auch den Befunden anderer Autoren entspricht (3, 110). Die Proteinkonzentrationsverminderung blieb also bei diesen Experimenten auf das Zytosol beschränkt, ein Resultat, das sich sehr gut mit der soeben vorgeschlagenen Deutung vereinbaren läßt. Einschränkend muß allerdings erwähnt werden, daß Untersuchungen vorliegen, in denen keine Veränderungen der Proteinfraktionen des Herzmuskels nach längerdauerndem körperlichem Training festgestellt werden konnten (13, 41).

4.3.3 ZUR FRAGE MITOCHONDRIALER FUNKTIONSÄNDERUNGEN

4.3.3.1 Citratsynthase (CS)

Wie sich aus den Tabellen 5 und 6 (S.131/132) ersehen läßt, ließen sich im Falle der CS keinerlei signifikante Aktivitätsänderungen beobachten, unabhängig von der Art des Aktivitätsmaßes. Dieser Befund bestätigt die Resultate von OSCAI et al. (110) an Schwimmratten und von BALDWIN et al. (4) an lauftrainierten Ratten. Erstere konnten auch an anderen Enzymen des Citratzyklus oder der Atmungskette nach einem Training, das dem in der vorliegenden Untersuchung durchgeführten hinsichtlich Dauer und Intensität vergleichbar war, keinerlei Aktivitätsveränderungen nachweisen.

Bereits anläßlich der Diskussion der CS-Aktivitätsänderungen im Goldblattrattenherzen wurde die Vermutung geäußert, daß ein Zusammenhang zwischen der ATP-Spaltungskapazität der myofibrillären Proteine und dem Niveau der CS-Aktivität besteht (s.4.2.3.1, S.60). Im Schwimmrattenherzen bleibt die Actomyosinkonzentration im Vergleich mit den Kontrollherzen entweder unverändert (13, 41; vgl. auch (7) über Lauftraining) oder erhöht sich nur leicht (87); gleichzeitig steigt die spezifische Aktivität der Actomyosin-ATPase (60, 94) bzw. der Myosin-ATPase (157) um ca. 50 % an. Diesem beträchtlichen Anstieg der myofibrillären ATP-Spaltungskapazität ging aber, wie die vorliegenden eigenen Ergebnisse zeigten, ein Anwachsen der CS-Aktivität nicht parallel. Dies kann einerseits bedeuten, daß die Hypothese über den Zusammenhang zwischen der Aktivität der CS und der Actomyosin-ATPase wenigstens auf Schwimmratten nicht zutrifft. Andererseits ist es vorstellbar, daß die CS-Aktivität und die Kapazität des Citratzyklus schon im normalen Herzen so dimensioniert sind, daß auch erhöhte ATPase-Aktivitäten hinreichend "bedient" werden können. Dies wäre ein erster Hinweis darauf, daß das Myokard einer Schwimmratte zu funktionellen Anpassungsleistungen beträchtlichen Aus-

maßes in der Lage ist, ohne daß eine wesentliche Änderung der metabolischen Kapazität im Sinne einer Steigerung von Enzymaktivitäten erforderlich wäre. Hierauf wird im weiteren noch einzugehen sein.

4.3.3.2 Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase (HOADH)

Die HOADH zeigte einen geringfügigen Aktivitätsabfall, ein Befund, der nicht überbewertet werden sollte, zumal das Signifikanzniveau im Fall der auf das Frischgewicht bezogenen Aktivität bei 0,047 lag, im Fall der proteinbezogenen Aktivität gar oberhalb von 0,05 (Tab.5 und 6, S.131 und 132). Diese vorsichtige Haltung wird bekräftigt durch die Untersuchungen von WALPURGER und ANGER (151), die ebenfalls über eine unveränderte HOADH-Aktivität berichteten. Auch nach nur kurzzeitiger, aber intensiver körperlicher Belastung bleibt diese Aktivität unverändert (24). Ebenfalls an Schwimmrattenherzen konnte nachgewiesen werden, daß diese bei gleichem Phospholipidgehalt beträchtlich weniger Triglyceride enthalten als die Kontrollherzen, ganz im Gegensatz zu den Verhältnissen nach Aortenstenosierung, wo die Akkumulation von Lipidtropfen im Gewebe auf einen beeinträchtigten Fettabbau schließen läßt (127). In der Arbeit von ARCOS et al. (3) wird behauptet, im Stadium der optimalen physischen Leistungsfähigkeit nach intensivem, 140-180 Stunden dauernden Schwimmtraining, seien bereits fokal-degenerative Prozesse in Gang gekommen, die vor allem Mitochondrien und ihre Enzymaktivitäten beträfen. Im Gegensatz dazu war weder irgendeines der untersuchten mitochondrialen Enzyme, noch das mitochondriale Protein in den Experimenten mehrerer anderer Autoren mit Schwimmratten verändert (13, 110, 151). REBEL und STEGMANN (123) haben sogar eine - allerdings bei jüngeren Ratten nicht hervorzurufende - erhebliche Steigerung der SDH-Aktivität finden

können, was sich bei den eigenen Experimenten jedoch nicht bestätigen ließ (s.u.).

Die überwiegende Mehrzahl der erwähnten Befunde spricht also in der Tat dafür, daß sich die mitochondrialen Stoffwechselkapazitäten von Schwimmratten und Kontrolltieren weitgehend gleichen (s.o., S.80/81). Wenigstens dieser Teil der metabolischen Ausstattung eines normalen Herzens reicht also auch für die Bewältigung stärkerer körperlicher Beanspruchungen aus (24, 111).

4.3.4 ENZYME DES KOHLEHYDRAT-STOFFWECHSELS

Die Hexokinase-Aktivität in den linken Ventrikeln der Schwimmratten wich von allen Enzymen prozentual am weitesten vom Kontrollwert ab. Bezogen auf das Frischgewicht fand sie sich bei den trainierten Tieren auf einem um 10 % (bei 100 mM Glucose) bzw. 11 % (0,5 mM Glucose) niedrigeren Niveau als bei den untrainierten; die proteinbezogene Aktivität war bei beiden Glucosekonzentrationen um 7 % vermindert (Tab.5 und 6, S.131 und 132). Eine Veränderung des $HK_{100}/HK_{0,5}$-Quotienten lag damit nicht vor, das HK-Isoenzym III hatte also seinen Beitrag zur gesamten löslichen HK-Aktivität nicht merklich verändert. Unter der Voraussetzung, daß auch eine Einbeziehung der partikelgebundenen HK keine wesentliche Änderung des Bildes ergäbe, läßt sich hinter dieser Aktivitätsabnahme ein verminderter Bedarf an HK vermuten. Demnach benötigt der Metabolismus des Schwimmrattenherzens wahrscheinlich eine geringere Aufnahmekapazität für Glucose aus externen Quellen, als dies im untrainierten Herzen der Fall ist. In diesem Zusammenhang muß man wohl auch die leicht erhöhte LDH-Aktivität sehen, einen Befund, den auch andere Autoren, zum Teil unter ähnlichen Bedingungen, zum Teil schon nach einem wesentlich kürzeren Training erhielten (24, 123, 151, 163, 164).

Zwischen den Aktivitätsänderungen der LDH und der HK läßt sich folgender Zusammenhang vermuten:

Unter der körperlichen Belastung des Schwimmens kommt es zu einem Lactatanstieg im Blut. Diese vermehrten Lactatmengen müssen vor allem im Herzen oxidiert werden. Im Gefolge einer Substratinduktion erhöht das kardiale Lactat-Utilisationssystem seine Kapazität (151), d.h. die LDH-Aktivität steigt an. Dadurch wäre einerseits das trainierte Herz in der Lage, bei körperlichen Anstrengungen durch schnellere Oxidation den Lactatanstieg im Blut besser hintanhalten zu können als ein untrainiertes Herz (68, 116). Andererseits könnte es dann auch einen größeren Teil der benötigten Energie aus dem anströmenden Lactat gewinnen,

als dies dem normalen Myokard möglich ist (10, 164). Das konditionierte Herz wäre damit im Falle eines zeitweilig besonders hohen Energieverbrauchs nicht mehr im selben Maße wie das unkonditionierte auf externe Glucoselieferungen angewiesen. Dadurch entfiele für die Herzmuskelzelle die Notwendigkeit, sich eine hohe Glucose-Einschleusungskapazität für besondere Belastungssituationen quasi in Reserve zu halten; d.h. die HK-Aktivität kann den Bedürfnissen entsprechend reduziert werden. Treffen diese Vermutungen den wahren Sachverhalt, so müßte man erwarten, daß die Aktivitäten der anderen Enzyme des Kohlehydratstoffwechsels unverändert bleiben. Dies müßte auch für die glykolytischen Enzyme gelten, weil bei Belastung das trainierte Herz im selben Maße wie das untrainierte auf seine Glykogenspeicher zurückgreifen können muß.

Im großen und ganzen lassen sich die Ergebnisse, die sich in der Literatur finden, mit den obigen Überlegungen vereinbaren. So wurden die Enzyme Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (GAPDH) und Glycerin-1-Phosphat-Dehydrogenase (GDH) bei Schwimm- und Laufratten untersucht, ohne daß signifikante Veränderungen festgestellt werden konnten (151). Die Phosphofructokinase (PFK), die im Gegensatz zur GAPDH ein Enzym nur der Glykolyse, nicht aber der Gluconeogenese ist, zeigte bei den Herzen von Schwimmratten in den Versuchen von PENNEY und OSCAI (163) keine Veränderungen; bei Laufratten wurde aber eine Tendenz zu erhöhten Werten gegenüber den Kontrollen beobachtet (4). Untersuchungen ergaben eine initial gesteigerte Aktivität der Diphosphofructaldolase (DPFA), die sich nach 8 Wochen Schwimmtraining aber wieder an die Kontrollwerte angeglichen hatte (48). Die deutliche Anhebung der Pyruvatkinaseaktivität bei Schwimmratten läßt sich nicht ohne zusätzliche Annahmen mit dem hier vorgelegten Konzept vereinbaren. Es ist allerdings einschränkend zu bemerken, daß es sich hierbei um ein wesentlich intensiveres und früher einsetzendes (Beginn im Alter von 5 Tagen) Schwimmtraining handelte, was eine ganz beträchtliche Überlagerung wachstumsbeding-

ter und trainingsinduzierter Effekte vermuten läßt, und damit die Vergleichbarkeit mit allen anderen Ergebnissen einschränkt (123). - Der Glykogenstoffwechsel im Schwimmrattenherzen scheint nicht beeinträchtigt zu sein; es wurden teils normal (163), teils stärker als im untrainierten Herzen gefüllte Glykogenspeicher (133) nachgewiesen; der Abbau des Glykogens unter körperlicher Belastung erfolgt aber gleich schnell (133, 163). Bei der Glykogensynthase des Meerschweinchenherzens konnte nach kurzem Training sogar ein Aktivitätsanstieg ermittelt werden (75).

Die leichte relative Vermehrung der M-Untereinheiten der LDH im linken Ventrikel der Schwimmratten, die auch von anderen Untersuchern gefunden wurde (163, 164), läßt sich mit dem bisher Erwähnten leicht vereinbaren: da die kathodischen LDH-Isoenzyme (hoher LDH-M-Anteil) gegenüber den anodischen bei höheren Lactatkonzentrationen ihre maximale Reaktionsgeschwindigkeit erreichen und bei Konzentrationen noch aktiv sind, bei denen die LDH-H-reichen Isoenzyme schon gehemmt werden, kann die relative Zunahme der M-Untereinheiten nur einen Vorteil für die Lactatverarbeitung bei körperlicher Belastung bedeuten (164).

4.3.5 ZU DEN HISTOCHEMISCHEN EXPERIMENTEN

Nachdem schon die Goldblattrattenherzen keine auffälligen Veränderungen der LDH-Nachweisreaktion gezeigt hatten, wurde bei den Schwimmratten im Rahmen der histochemischen Experimente neben den Myofibrillar-ATPasen nur noch die SDH-Reaktion untersucht. Dies erschien deshalb sinnvoll, weil REBEL und STEGMANN (123) in ausgewachsenen Herzen von Schwimmratten eine intensivierte SDH-Reaktion nachweisen konnten, die CS-Aktivität der Schwimmerherzen in den eigenen Versuchen aber unverändert geblieben war (s.3.3.3.1, S.46).

Die Kapazität des Citratzyklus im normalen Herzen genügt ja wahrscheinlich, auch unter den Bedingungen stundenlanger körperlicher Belastung den kontraktilen Apparat der Herzmuskelzelle ausreichend mit Energie zu versorgen (s.4.3.3.1, S.80/81). Demnach war zu erwarten, daß zwischen den Herzen der Schwimm- und der Kontrollratten bezüglich der SDH-Reaktion keine groben Unterschiede bestehen. Tatsächlich ließen sich Schwimmratten- und Kontrollherzen hinsichtlich Struktur und Anfärbeeigenschaften auf SDH nicht unterscheiden (s.3.3.4, S.48); auch HEARN und WAINIO (47) fanden keine Veränderungen dieses Enzyms. Beim Vergleich mit den Befunden von REBEL und STEGMANN (123) muß jedoch in Rechnung gestellt werden, daß diese bei noch unausgewachsenen Schwimmratten eine verminderte, bei ausgewachsenen dagegen eine verstärkte SDH-Aktivität erhielten, in einem zwischen diesen beiden Kollektiven liegenden Alter also durchaus eine unveränderte SDH-Reaktion möglich erscheint.

Die Arbeiten von MEDUGORAC (63) und BHAN und SCHEUER (13) zeigen, daß bei Schwimmratten ein zum Teil beträchtlicher Anstieg der Actomyosin-ATPase-Aktivität erfolgt, während ARCOS et al. (3) in histochemischen Versuchen an Schwimmrattenherzen und BALDWIN et al. (4) in der Küvette an Herzen lauftrainierter Ratten keine Myofibrillar-ATPase-Aktivitätsveränderungen feststellen konnten. Auch an den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Schwimmrattenherzen ließen sich

keine auffälligen Differenzen zwischen dem Ausfall der ATPase-Nachweisreaktion bei trainierten und untrainierten Tieren erkennen (vgl.3.3.4, S.48). Damit bliebe auch im linken Ventrikel von Schwimmratten das ursprüngliche Verhältnis von CS- zu Myofibrillar-ATPase-Aktivität wenigstens ungefähr erhalten (s.4.2.3.1, S.60). Die offensichtlichen Diskrepanzen zwischen den erwähnten histochemischen Ergebnissen und den mit Küvettenbestimmungen gewonnenen (13, 63) könnten natürlich auf zu unterschiedliche Trainingsbedingungen der Versuchstiere zurückgeführt werden. Die Lektüre der Publikation von MEDUGORAC et al. (94) legt jedoch eine andere Erklärung nahe: dort wird gezeigt, daß die Gesamt-ATPase-Aktivität des Schwimmrattenmyokards, gemessen im Ventrikelhomogenat bei einer Ca^{++}-Konzentration von 20 mM (dies entspricht der bei den eigenen Versuchen eingesetzten), nur um ca. 10-15 % über dem Kontrollwert liegt, obwohl die spezifische Actomyosin-ATPase-Aktivität um mehr als 60 % angestiegen war. Diese unterschiedlichen Resultate lassen sich einerseits dadurch erklären, daß im Ventrikelhomogenat auch nicht-myofibrilläre ATPase-Aktivitäten mitbestimmt werden, andererseits auch die unterschiedlichen Meßbedingungen - einmal Homogenat, das andere Mal gereinigte Präparation - eine Rolle spielen können. Sehr wahrscheinlich lassen sich histochemische Befunde eher mit den Ergebnissen von Gesamt-ATPase-Aktivitätsbestimmungen im Ventrikelhomogenat vergleichen als mit den Resultaten an Myosin- oder Actomyosinpräparationen, wenn auch bei ersteren nicht-myofibrilläre ATPase-Aktivitäten mitgemessen worden sein dürften. Da ein derartiger Aktivitätsunterschied von + 10 bis 15 % zwischen Schwimm- und Kontrollrattenherzen mit den angewandten histochemischen Methoden jedoch kaum nachgewiesen werden kann, lassen sich auch die genannten scheinbar abweichenden Resultate durchaus mit den oben vorgetragenen vereinbaren.

Die im Verlaufe dieser Diskussion angeführten Daten zur Enzymausstattung der Mitochondrien und des Kohlehydratstoff-

wechsels im linken Ventrikel der Schwimmratten zeigen eindeutig, daß schon das untrainierte Herz in der Lage ist, größeren Anforderungen auch ohne wesentliche Veränderungen des mitochondrialen Enzymbesatzes zu genügen. Ähnliches gilt auch für die Enzyme des Kohlehydrat-Stoffwechsels, wenn auch hier die verstärkte Lactatutilisation offenbar eine gewisse Anpassung erforderlich macht. Die meisten Umstellungsprozesse dürften daher in relativ frühen Stadien ablaufen und wohl vor allem im Bereich der myofibrillären Proteine zu suchen sein (s.1.2, S.6/7).

Ein wichtiger Punkt wurde bisher noch nicht angesprochen: die Bedeutung der Skelettmuskulatur. Beim körperlichen Training paßt auch sie sich nämlich der neuen Belastungssituation an und versucht, einen möglichst großen Anteil der benötigten Energie auf aerobem Wege zu gewinnen (5, 162). Zudem lernen wohl auch Ratten im Laufe eines Trainingsprogramms sich mit möglichst geringem Arbeitsaufwand über Wasser zu halten. Beide Faktoren tragen zu einer Begrenzung der an das trainingsbelastete Herz gestellten Anforderungen bei, was beim Vergleich mit dem chronisch druckbelasteten von Bedeutung ist (s.4.6, S.95).

4.4 ANMERKUNGEN ZU DEN VERSUCHEN MIT SPONTAN-HYPERTENSIVRATTEN

Im interventrikulären Septum 10 Monate alter Spontanhypertensivratten fanden sich gegenüber den Wistar-Kontrollratten keine Anhaltspunkte für Veränderungen der LDH_{pyr}- oder LDH_{lac}-Aktivität (Tab.8, S.133). Die Zunahme des M-Wertes um 7 % war statistisch nicht signifikant. TANIJIRI (141) erhielt bei seinen semiquantitativen histochemischen Untersuchungen des Myokards spontanhypertensiver Ratten eine nur in den ersten Lebenswochen ausgeprägte Erhöhung der LDH-Aktivität. Dies konnte anhand von Aktivitätsmessungen im Homogenat bestätigt werden (52).

In Anlehnung an REVIS und CAMERON (126) wurde im Abschnitt 4.2.4.2 (s.S.69) vermutet, daß dem Anstieg des M-Wertes im linken Goldblattratten-Ventrikel eine beginnende Bindegewebsproliferation zugrunde liegt. MEDUGORAC (91) hat nun den Hydroxyprolingehalt verschiedener Herzteile spontanhypertensiver Ratten bestimmt. Er stellte fest, daß dieser Parameter im Septum hypertrophierter Herzen im Alter von 16 Monaten um einen Prozentsatz gegenüber dem Kontrollwert angestiegen war, der ziemlich genau zwischen den Zunahmen im linken und rechten Ventrikel lag. Daher ist anzunehmen, daß auch im Septum 10 Monate alter Ratten eine entsprechende Veränderung eintritt, wenn die Hydroxyprolinkonzentration um 41 % im linken und um 26 % im rechten Ventrikel zunimmt (91). Eben dieses Septum stand zur Untersuchung der LDH zur Verfügung; es konnte aber nur eine unbedeutende Zunahme des M-Wertes nachgewiesen werden. Diese Beobachtung weckt Zweifel an der These, eine Bindegewebsvermehrung sei stets mit einer Zunahme des M-Wertes verbunden (126). Es ist aber auch möglich, daß im Myokard spontanhypertensiver Ratten noch andere Prozesse ablaufen, die - spezifisch für diese Art der Herzhypertrophie - die Manifestation eines bindegewebsbedingten Isoenzymshifts verhindern.

4.5 ANMERKUNGEN ZU DEN VERSUCHEN MIT JUNGRATTEN

4.5.1 KÖRPER- UND HERZGEWICHTE

Daß bei jungen Ratten Körper- und Herzgewichte zunächst schneller, später langsamer zunehmen, bedarf keiner näheren Erörterung (Tab.9, S.134). Ein Blick auf die fünfte Spalte der Tabelle 9 zeigt erneut (vgl.4.3.1, S.77/78), wie unsinnig es wäre, den linksventrikulären Index allein als Hypertrophiemaß heranzuziehen: obwohl dieser Index etwa ab der zweiten Lebenswoche abnimmt, kann man wohl in Anbetracht der Einstellung der Mitosetätigkeit der Herzmuskelzellen nach 3 bis 4 Wochen (165) und einer Massenzunahme von mehr als 1000 % innerhalb der ersten 4 Wochen kaum von einer linksventrikulären Hypertrophie beim wachsenden im Vergleich zum älteren Tier sprechen.

4.5.2 LÖSLICHES PROTEIN

Der Anstieg der Konzentration des löslichen Proteins um mehr als 70 % innerhalb der ersten 4 Lebenswochen (Tab.9, S.134) läßt sich nur teilweise mit der Abnahme des Wassergehaltes des Herzmuskels von 87 auf 80 % innerhalb dieser Zeitspanne erklären (89). Offenbar benötigt das Herz vermehrt nicht strukturgebundenes Eiweiß, vor allem wohl Enzymproteine (s.u.). Die Konzentration der Myofibrillen bleibt dabei in etwa konstant (6) oder nimmt nur wenig zu (89).

4.5.3 ENZYME DES KOHLEHYDRATSTOFFWECHSELS

4.5.3.1 Hexokinase (HK) (Abb.9, S.118)

Die HK-Aktivität, gemessen bei einer Glucosekonzentration von 100 mM, stieg in den linken Ventrikeln der Jungratten unmittelbar nach der Geburt an. Nach etwa einer Woche begann dann ein kontinuierlicher Abfall auf das Niveau der erwachsenen Tiere, das um 13 % unter dem der neugeborenen lag. Es ist möglich, daß der anfängliche Anstieg dazu dient, die niedrige Fettsäure-Oxidationskapazität des neonatalen Herzens (150, 159) bei gleichzeitig gesteigerten Anforderungen an die Energiebereitstellung zu kompensieren. Auch die Veränderungen der LDH-Aktivität (s.u.) können in diesem Sinne interpretiert werden.

Mit der verwendeten Bestimmungsmethode wurden vor allem die Isoenzyme I und II der HK erfaßt, während die HK III bei den verwandten Glucosekonzentrationen gehemmt wird (106). Es ist daher nicht verwunderlich, wenn man bei Versuchen mit 2 mM bzw. 10 mM Glucose niedrigere Werte und einen anderen Verlauf der Aktivitätsveränderungen erhält (6, 98). KATZEN und SCHIMKE (65) konnten mit ihren relativ groben Färbemethoden zwar keine Unterschiede zwischen den kardialen HK-Isoenzymmustern 0 bis 2 Tage und denen 6 bis 7 Wochen alter Ratten nachweisen; dies schließt jedoch nicht aus, daß - wie von einem Vergleich der Resultate von BALDWIN et al. (6) und MEERSON et al. (98) mit den hier dargestellten nahegelegt wird - unmittelbar nach der Geburt noch Isoenzymverschiebungen stattfinden. Die Tatsache, daß sich bei Mäusen in der Perinatalperiode starke Mitochondrienveränderungen abspielen (29), macht dies sogar wahrscheinlich.

4.5.3.2 Lactatdehydrogenase (LDH) (Abb.9-12, S.118-123)

Schon seit den 60er Jahren ist bekannt, daß die LDH-Aktivität des Herzmuskels der Ratte von Geburt an zunimmt (64). STYKA und PENNEY (139) haben außerdem nachgewiesen, daß dieser Anstieg eigentlich nur die Fortsetzung einer schon intrauterin ablaufenden Entwicklung ist. Die eigenen Meßergebnisse stimmen relativ gut mit denen anderer Autoren überein (6, 64). Während diese jedoch bis wenigstens zum Alter von 30 Wochen einen kontinuierlichen LDH-Aktivitätsanstieg im Gesamtherzen ermittelten, war bei den eigenen Versuchstieren im linken Ventrikel das Maximum bereits im Alter von 16-20 Wochen erreicht (Abb.9, S.118); dies läßt sich auch gut mit der Annahme vereinbaren, eine Ratte dieses Alters könne als ausgewachsen angesehen werden (s.2.1.1.2b, S.15). Die steigende Tendenz der LDH-Aktivität läßt sich ähnlich wie die des löslichen Proteins zu einem Teil auf den abnehmenden Wassergehalt des linken Ventrikels zurückführen (MEDUGORAC (89)). Betrachtet man jedoch die proteinbezogenen Aktivitäten der LDH, so zeigt sich initial ein kräftiger Abfall, der erst nach einiger Zeit wieder ausgeglichen wird (Abb.9, S.118). Die aufs Trockengewicht bezogene LDH-Aktivität zeigt eine ähnliche Entwicklung (71).

Eigentlich sollte die erwähnte Aktivitätszunahme bedeuten, daß anfallendes Lactat aus der Peripherie - vor allem bei körperlicher Tätigkeit - schneller oxidiert werden kann. Möglicherweise steht dies in Zusammenhang mit der allmählich zunehmenden funktionellen Kapazität des neonatalen Herzens (55). Es ist jedoch nicht klar, ob dies auch für die ersten 14 Tage des postnatalen Lebens gilt, tritt doch gerade in dieser Zeit die erwähnte Abnahme der aufs Trockengewicht und der aufs lösliche Protein bezogenen LDH-Aktivität in Erscheinung (71):

Für die Geschwindigkeit, mit der Lactat in der Herzmuskelzelle oxidiert werden kann, sind zum einen die lokale, d.h. intrazelluläre Konzentration des Substrats, zum

anderen die des Enzyms maßgebend. Nimmt nun der Wassergehalt des gesamten linken Ventrikels ab, so kann dies entweder vor allem den Extrazellulärraum betreffen, oder vorwiegend den Intrazellulärraum oder aber beide gleichzeitig. Sollte den erwähnten Beobachtungen von MEDUGORAC (89) ersteres zugrunde liegen, so bedeutete dies, daß zwar die Konzentration der LDH-Moleküle im gesamten linken Ventrikel infolge des Wasserverlustes zunimmt (d.h. man errechnet einen Aktivitätsanstieg pro Gramm Frischgewicht); die LDH-Aktivität im einzelnen Myozyten könnte aber weniger stark oder gar nicht ansteigen, u.U. sogar abfallen. Die Aktivitätssteigerung der LDH unmittelbar nach der Geburt muß also nicht unbedingt mit einer ebenso starken Zunahme der Lactatoxidationskapazität verbunden sein. In der Tat lassen sich auch die Änderungen der HK_{100}-Aktivität (vgl.4.5.3.2, S.91) in diesem Sinne interpretieren: faßt man diese als Anzeichen für einen variierenden Bedarf der Zelle an externer Glucose auf, so spricht die Tatsache, daß die HK_{100}-Aktivität erst nach der ersten Lebenswoche allmählich abfällt, für einen anfangs noch erhöhten derartigen Glucosebedarf - etwa bedingt durch eine noch nicht voll leistungsfähige Lactatutilisation.

Die LDH-Isoenzymveränderungen in den linken Ventrikeln der Versuchstiere (Abb.10 und 11, S.120-122) entsprachen ganz den Beobachtungen anderer Untersucher (35, 82, 139). Diese Entwicklung in Richtung auf eine Dominenz der H-Untereinheiten setzt ebenfalls eigentlich nur eine Tendenz fort, die schon seit der frühen Embryonalzeit bestand (81, 139). Der gleichzeitig zunehmende Bindegewebsgehalt - erkennbar an der steigenden Hydroxyprolinkonzentration (95) -, der sich mit einer Erhöhung des M-Wertes bemerkbar machen müßte (112, 126) tritt gegenüber den massiven Veränderungen in den Myozyten gar nicht in Erscheinung. STYKA und PENNEY (139) haben verschiedene Erklärungsansätze für diesen Isoenzymshift, die in den letzten Jahren vorgetragen wurden, zusammengestellt: so vermuten einige Autoren, der niedrige

Sauerstoffpartialdruck im Fetalblut erfordere einen hohen kardialen M-Wert; andere machen dafür hohe Plasma-Lactat-Titer in der Fetalzeit verantwortlich; und schließlich wurde es auch für denkbar gehalten, daß eine Zunahme der Zahl der Mitochondrien, mit denen die LDH-H-reichen Isoenzyme vornehmlich assoziiert sind, zu dem postnatalen Abfall des M-Wertes beitragen. Auch daß die beginnende sympathische Innervation des Herzens in der Neonatalperiode für Veränderungen in der Enzymausstattung von Bedeutung sein könnte, wird für möglich gehalten (6). Abgesehen von der an dritter Stelle zitierten führen alle diese Erklärungsversuche die Entwicklung der LDH-Isoenzymzusammensetzung auf relativ rasch während oder nach der Geburt auftretende Ereignisse zurück. In Anbetracht der Arbeit von MASTERS und HINKS (81), die bei zahlreichen Spezies eine eher langfristig-kontinuierliche Veränderung des Isoenzymmusters verschiedener Organe schon von frühen embryonalen Stadien an beobachtet werden konnten, ist es wahrscheinlicher, daß sich hier ein genetisch determinierter, eher autonomer Reifungsprozeß abspielt, dessen Geschwindigkeit durch Umwelteinflüsse lediglich modifiziert werden kann.

4.6 SCHLUSSBEMERKUNGEN

Morphologisch betrachtet führen verschiedene Formen der hämodynamischen Herzbelastung in vielen Fällen zu nur quantitativ unterschiedlichen Ergebnissen: einer mehr oder weniger ausgeprägten Hypertrophie des belasteten Herzteils. Schon Untersuchungen von Kontraktilitätsparametern und myofibrillären ATPase-Aktivitäten hatten aber ergeben, daß sich druck- und volumenbelastete Ventrikel mit zudem differierenden zeitlichen Charakteristika der Stressoren ganz beträchtlich voneinander unterscheiden. Die vorliegende Arbeit bestätigte dies für den Vergleich Goldblatt-II-Ratten/Schwimmratten auf enzymbiochemischer Ebene. Deutet nämlich im - teils wenig, teils stark hypertrophierten - Goldblatt-Herzen die z.T. beträchtliche Abnahme der Aktivitäten gewisser mitochondrialer Enzyme auf eine beeinträchtigte Funktion zentraler Stoffwechselmechanismen hin - was somit morphologische Hinweise am selben Objekt bestätigt - , so lassen sich in dieser Hinsicht bei Schwimmratten - mit höchstens geringgradiger Hypertrophie - nur kleinere Veränderungen nachweisen. Ähnlich verhält es sich mit dem Kohlehydratstoffwechsel. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen zahlreicher anderer Autoren fanden sich Anzeichen für einen gesteigerten Kohlehydratumsatz im druckhypertrophierten Herzen der Goldblattratten, während im Schwimmrattenherzen derartiges nicht festgestellt werden konnte. Selbst die Veränderungen der LDH-Aktivität, die bei Goldblatt- und Schwimmratten in dieselbe Richtung gingen, müssen je nach Belastungsmodell unterschiedlich interpretiert werden: einmal als Anpassung an einen vermehrten Lactatzustrom aus der Skelettmuskulatur (bei den Schwimmratten), das andere Mal als Versuch des myokardialen Gewebes, eine ungenügende Substratversorgung bestimmter Herzmuskelbezirke durch anaerobe Energiegewinnung wenigstens teil- und zeitweise zu kompensieren. Es kann also festgehalten werden, daß auch vom enzymbiochemischen Standpunkt aus verschiedene Formen der Herzhyper-

trophie nicht in einen gemeinsamen Topf geworfen werden dürfen, sondern wenigstens eine Unterteilung hinsichtlich der Art der Belastung (chronisch vs. intermittierend, Druckbelastung vs. Volumenbelastung) vorgenommen sowie der Einfluß anderer Organsysteme (Skelettmuskulatur bei Schwimm-, nicht aber bei Goldblattratten) berücksichtigt werden muß.

5. ZUSAMMENFASSUNG

1. 4-6, 8-12 und 10-14 Wochen nach der Operation wurden einige Enzyme des Kohlehydratstoffwechsels (Lactatdehydrogenase, LDH und Hexokinase, HK) und der Mitochondrien (Citratsynthase, CS und Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase, HOADH) im hypertrophierten linken Ventrikel von Goldblatt-II-Ratten hinsichtlich Aktivität und Isoenzymverteilung untersucht. Außerdem wurde mit enzymhistochemischen Techniken die regionale Verteilung von LDH-, SDH(Succinatdehydrogenase)- und Myofibrillar-ATPase-Aktivität im Herzmuskelquerschnitt studiert. Der Vergleich mit gleichaltrigen Kontrolltieren ergab folgendes Bild des Energiestoffwechsels im Myokard des linken Goldblattrattenventrikels:
   a) Fettsäure-Oxidationskapazität und Citratzyklus sind in ihrer Funktion wahrscheinlich beeinträchtigt; dadurch droht die Gefahr einer Insuffizienz des kardialen Stoffwechsels;
   b) im Goldblattrattenherzen liegt eine gegenüber den Kontrollwerten erhöhte HK-Aktivität und eine relative Zunahme des Isoenzyms III vor; verschiedenen anderen Autoren folgend wird dies als Ausdruck einer gesteigerten Kohlehydratutilisation gewertet; der Abfall der Fettsäure-Oxidationskapazität könnte dadurch wenigstens teilweise kompensiert werden;
   c) eine anfänglich vergleichsweise erhöhte, später aber erniedrigte LDH-Aktivität sowie eine leichte relative Zunahme der M-Untereinheiten lassen auf verschlechterte Durchblutungsverhältnisse im Myokard schließen; möglicherweise sind diese Veränderungen auch durch eine beginnende Bindegewebsproliferation mitbedingt;
   d) die Druckbelastung führt zu keiner merklichen Veränderung der regionalen Verteilung von LDH, SDH oder Myofibrillar-ATPase-Aktivität im Herzmuskel; Unterschiede in der Aktivität dieser Enzyme zwischen hypertensiven und normotensiven Tieren konn-

ten mit den histochemischen Methoden nicht nachgewiesen werden.

2. Analoge Untersuchungen wurden an Schwimmratten nach 10- bis 14-wöchigem Training durchgeführt; eine Massenzunahme des linken Ventrikels war dabei - im Gegensatz zu den Versuchen mit Goldblattratten - nicht festzustellen. Die untersuchten mitochondrialen Enzymaktivitäten (CS, HOADH) blieben unverändert, und auch die des Kohlehydratstoffwechsels bewegten sich nur wenig nach oben (LDH) oder unten (HK). Als Erklärung hierfür bot sich der erhöhte Lactatumsatz bei gesteigerter körperlicher Aktivität an, der einerseits eine etwas höhere LDH-Aktivität erforderlich macht, andererseits den Bedarf des Herzens an externer Glucose herabsetzen dürfte und damit die Abnahme der HK-Aktivität erklärt. Die histochemischen Untersuchungen ließen auch hier keine Differenzen zwischen trainierten und untrainierten Tieren erkennen. Die Enzymausstattung eines normalen, untrainierten Herzens unterscheidet sich demnach insgesamt nur geringfügig von der einer Schwimmratte. Offenbar ist das untrainierte Herz ohne größere metabolische Umstellungen in der Lage, auch zwischenzeitlich stark erhöhten Anforderungen zu genügen.

3. Im Septum spontanhypertensiver Ratten konnte im Vergleich mit normotensiven Tieren weder eine LDH-Aktivitätsänderung, noch eine LDH-Isoenzymverschiebung nachgewiesen werden, obwohl von einem erhöhten Bindegewebsgehalt ausgegangen werden muß. Die von anderen Autoren vorgebrachte These, ein Anstieg der myokardialen Kollagenkonzentration sei stets von einer Zunahme des Anteils der M-Untereinheiten an der LDH-Gesamtaktivität begleitet, ist daher ohne Einschränkungen nicht haltbar.

4. Schließlich wurden noch LDH- und HK-Aktivitäten neugeborener und bis zu 4 Wochen alter Ratten untersucht. Während die auf das Frischgewicht bezogene LDH-Aktivität kontinuierlich anstieg, fiel der Anteil der M-Untereinheiten an der LDH-Gesamtaktivität ab, beides als Fortsetzung intrauteriner Entwicklungen. In den ersten zwei Lebenswochen nimmt jedoch der Wassergehalt des Herzens so stark ab, daß auch eine zunehmende LDH-Aktivität während dieser Zeit nicht notwendigerweise zu einer verbesserten Lactatutilisation führen muß. Die erst nach etwa 1 Woche nach der Geburt abfallende HK-Aktivität würde diese Auffassung bestätigen. Darüberhinaus fanden sich Hinweise auf Veränderungen der HK-Isoenzymzusammensetzung in den ersten Lebenswochen.

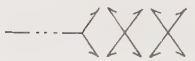
6. ABBILDUNGEN UND TABELLEN

Abb. 1 - 12 : S. 102 - 123
Tab. 1 - 9 : S. 124 - 134

Legende zu Abb. 1 (S.103):

Schema des Energiestoffwechsels (nach BUDDECKE (21)).
Die wichtigsten im Text erwähnten Enzyme sind als Zahlen in Fünfecken eingetragen.
Es bedeuten:

1 = Hexokinase
2 = Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
3 = Glykogensynthase
4 = Phosphofructokinase
5 = Diphosphofructaldolase
6 = Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenase
7 = Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase
8 = Pyruvatkinase
9 = Lactat-Dehydrogenase
10 = Acyl-Carnitin-CoA-Transferase
11 = Hydroxy-Acyl-CoA-Dehydrogenase
12 = Citratsynthase
13 = Isocitrat-Dehydrogenase
14 = Succinat-Dehydrogenase
15 = Malat-Dehydrogenase

 symbolisiert den Pentosephosphatshunt.

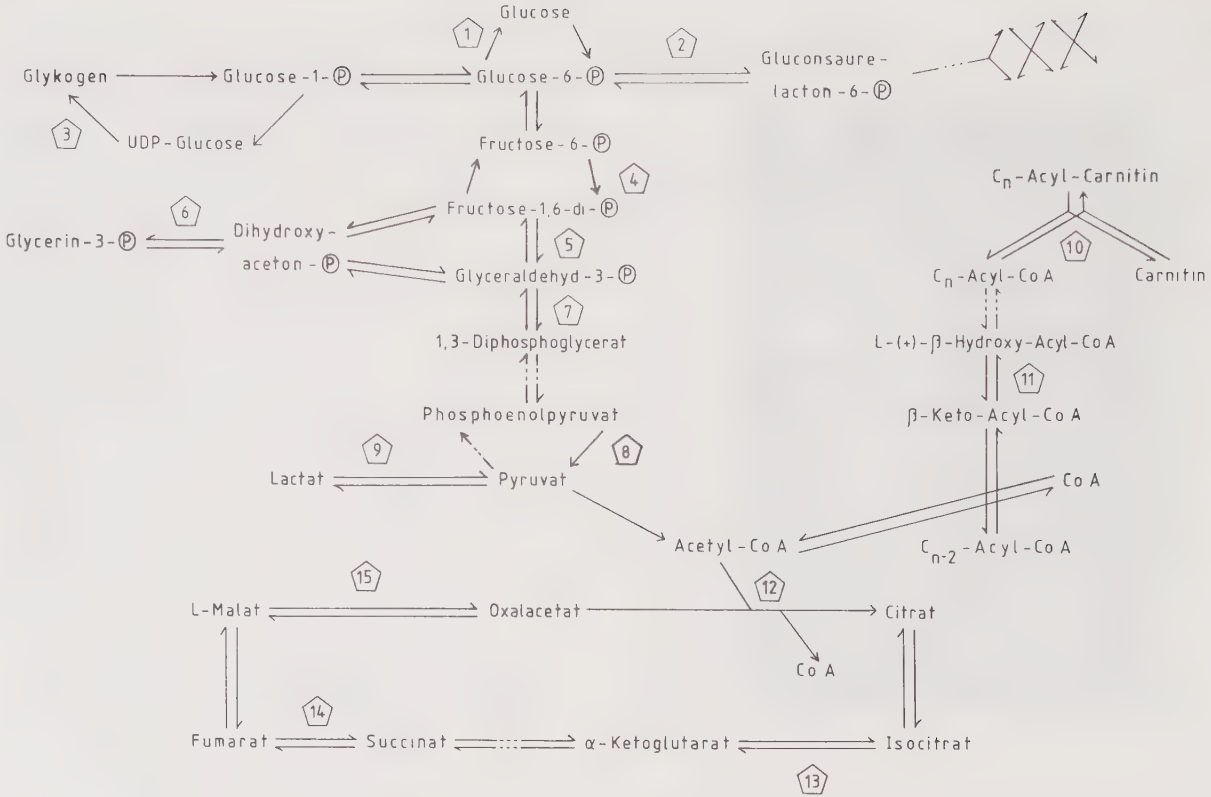


Abb. 1: Schema des Energiestoffwechsels (nach BUDDECKE (21))

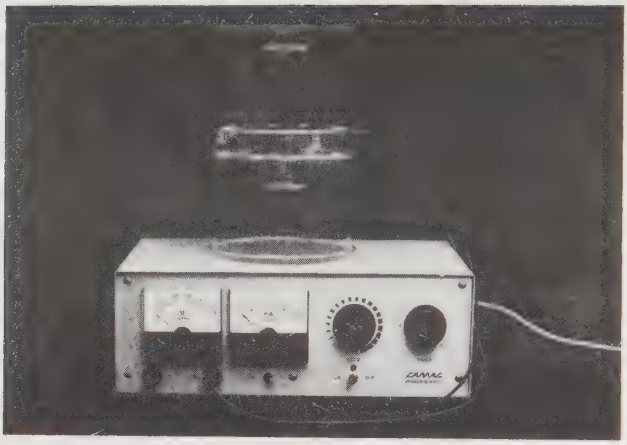


Abb. 2: Für die LDH-Elektrophorese verwandter Elektrophoresetank samt Stromgeber

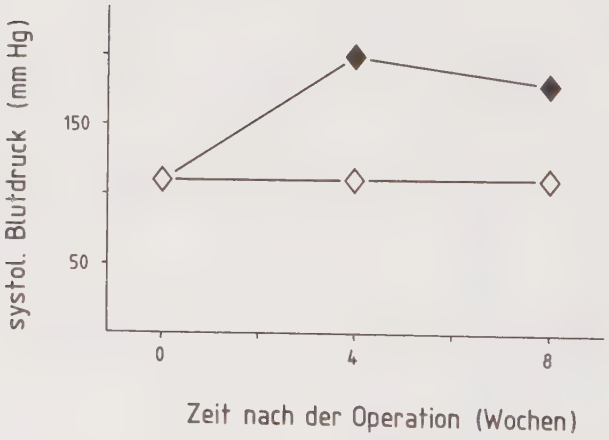


Abb. 3: Verlauf des systolischen Blutdrucks bei Goldblattratten (◆ — ◆) im Vergleich mit Kontrollen (◇ — ◇)

Legende zu Abb.4 (S.106 und 107):

Typische LDH-Isoenzymverteilung im linken Ventrikel von Goldblattratten (GBR_5 bzw. GBR_{10}) und Kontrolltieren gleichen Alters (KR_5 bzw. KR_{10}):

a) auf S.106 oben: GBR_5 ,
unten: KR_5 ;
b) auf S.107 oben: GBR_{10} ,
unten: KR_{10} .

Dargestellt sind PAA-Gele nach ca. 2-stündiger Elektrophorese, angefärbt auf LDH-Aktivität. Die Kurven zeigen den Absorptionsverlauf entlang des gefärbten Gels bei 550 nm. Die Isoenzyme wanderten von rechts nach links. Demnach lautet die Bezeichnung der Isoenzyme von rechts nach links: LDH-M_4, LDH-HM_3, LDH-H_2M_2, LDH-H_3M und LDH-H_4 .

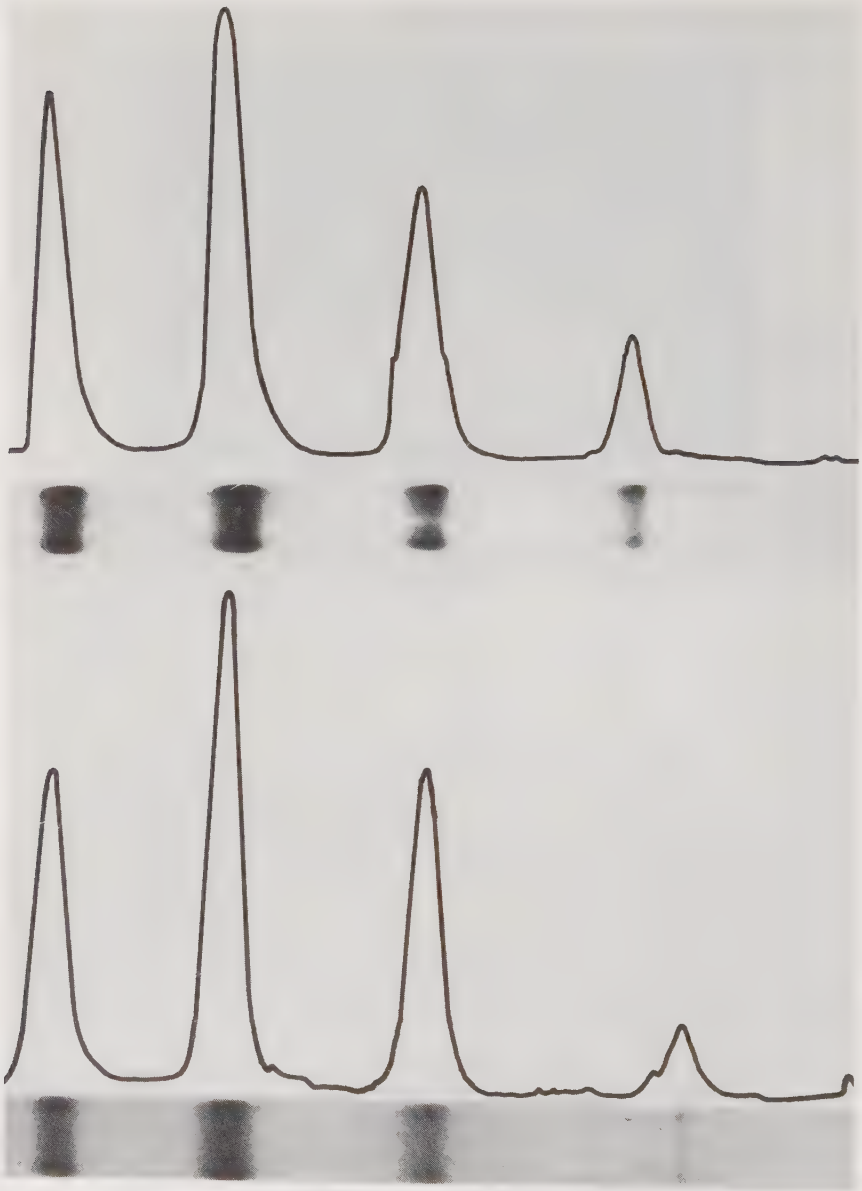


Abb. 4a: LDH-Isoenzyme von GBR_5 (oben) und KR_5 (unten)

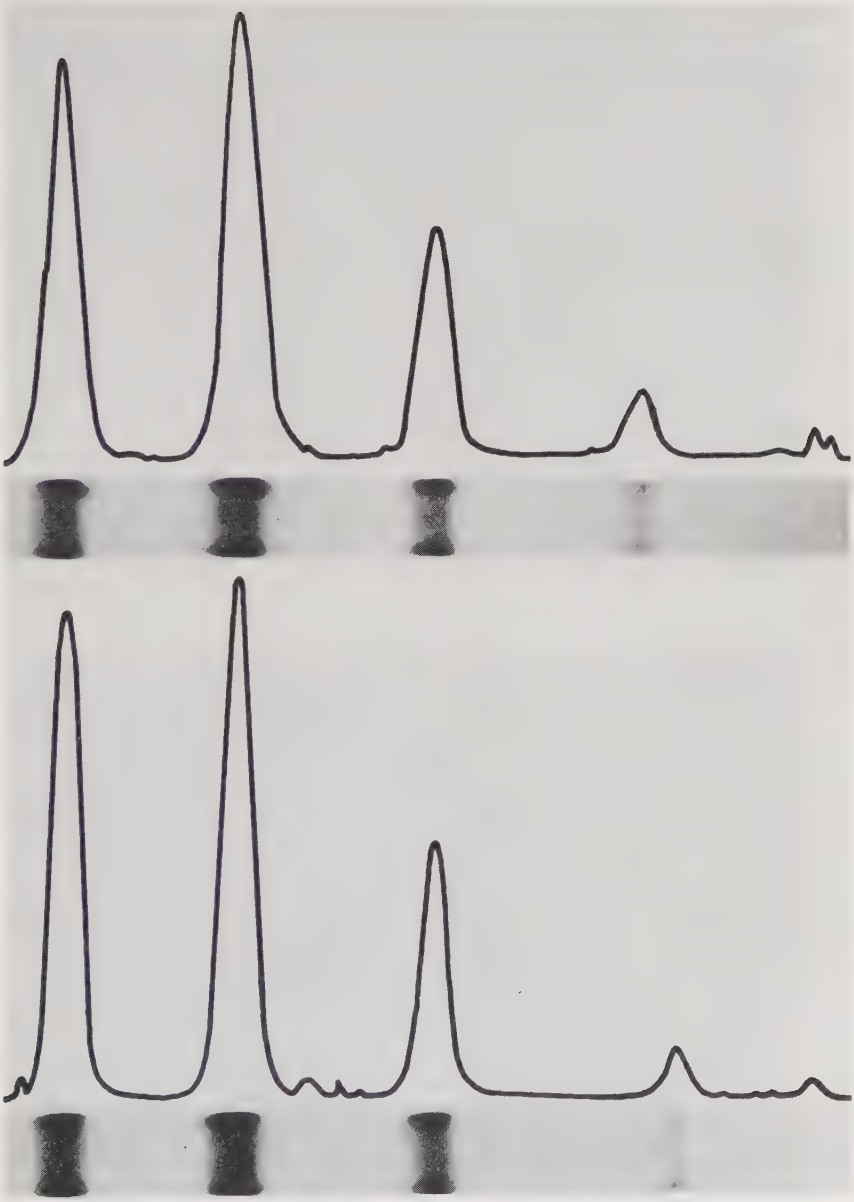


Abb. 4b: LDH-Isoenzyme von GBR_{10} (oben) und KR_{10} (unten)

Legende zu Abb.5a-h (S.109-112):

Schnitte durch den linken Ventrikel von Goldblattratten (GBR; a, c, e, g) und entsprechenden Kontrolltieren (KR; b, d, f, h) 10-14 Wochen nach dem Operationstermin. Dargestellt sind sowohl schräg- oder längsgetroffene Herzmuskelzellen, als auch quergetroffene. Präparatstellen mit Enzymaktivität erscheinen im Bild dunkel. Der weiße Balken entspricht jeweils 20 µm.

Abb. 5a und b (S.109): Nachweis der SDH,
Abb. 5c und d (S.110): Nachweis der LDH,
Abb. 5e und f (S.111): Nachweis der säurestabilen Myofibrillar-ATPase
Abb. 5g und h (S.112): Nachweis der alkalistabilen Myofibrillar-ATPase

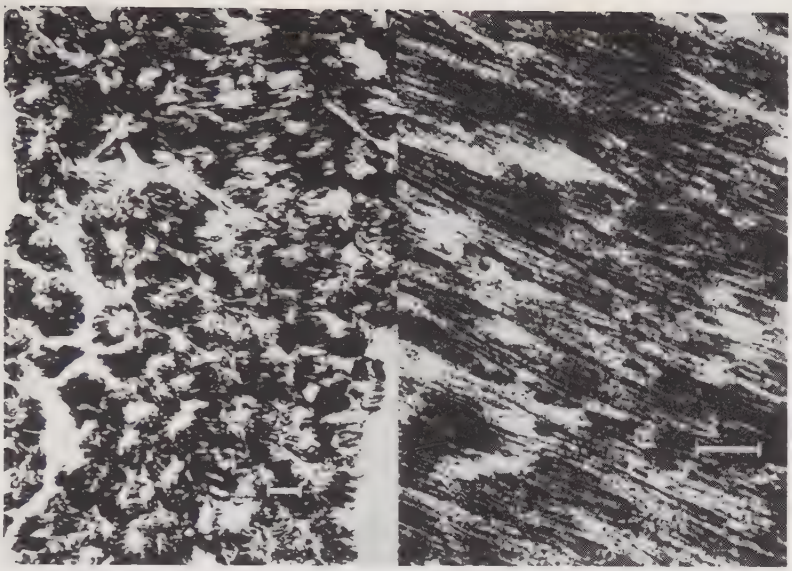


Abb. 5a: SDH bei GBR

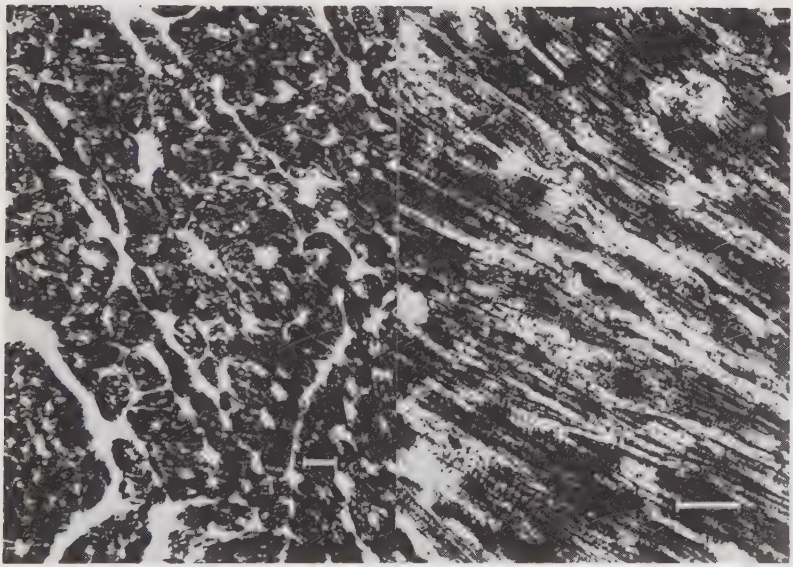


Abb. 5b: SDH bei KR

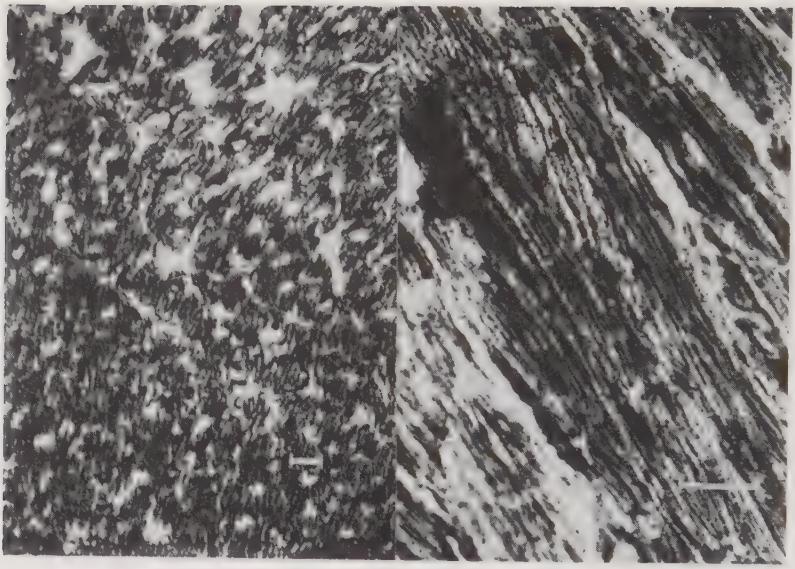


Abb. 5c: LDH bei GBR

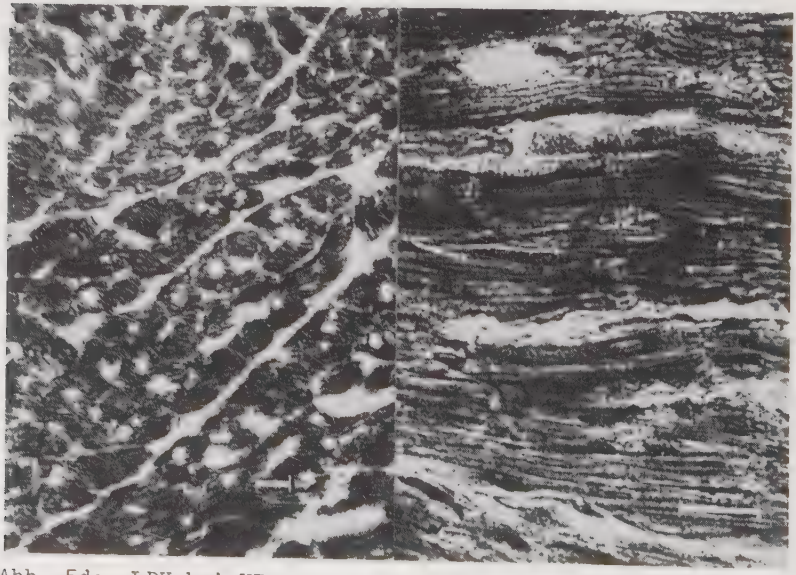


Abb. 5d: LDH bei KR

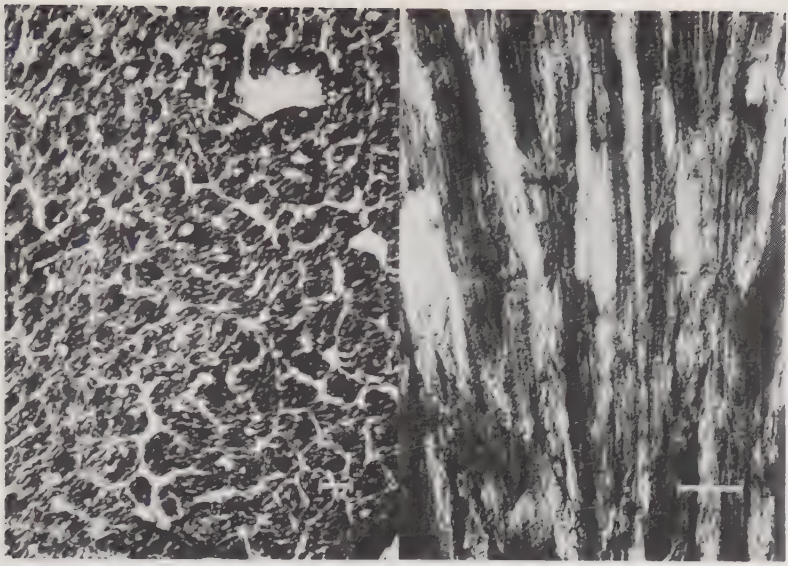


Abb. 5e: Säurestabile Myofibrillar-ATPase bei GBR

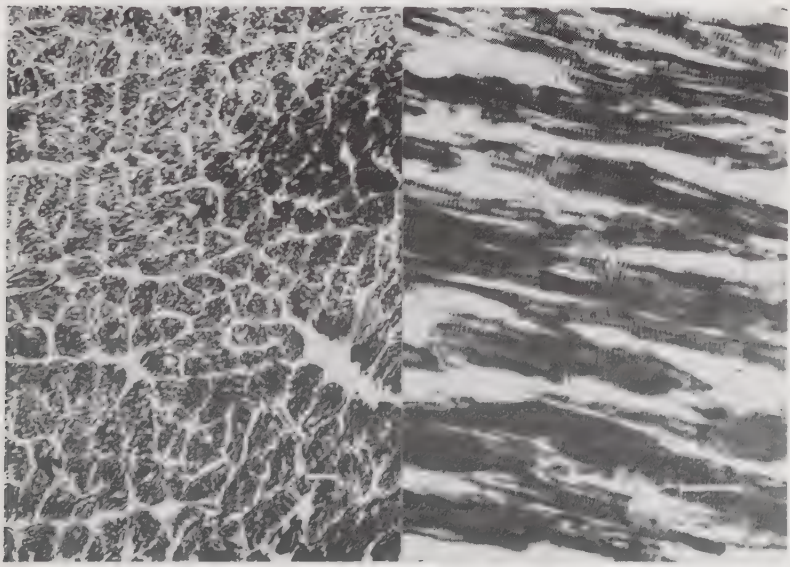


Abb. 5f: Säurestabile Myofibrillar-ATPase bei KR

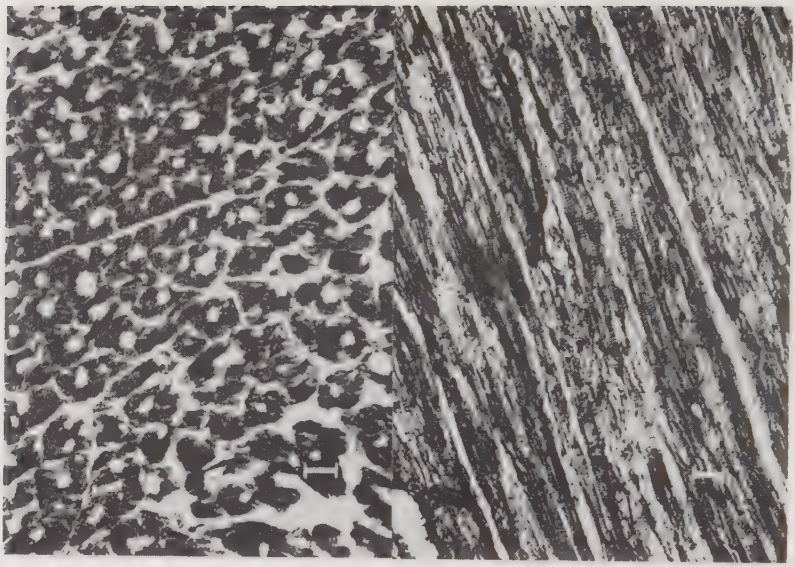


Abb. 5g: Alkalistabile Myofibrillar-ATPase bei GBR

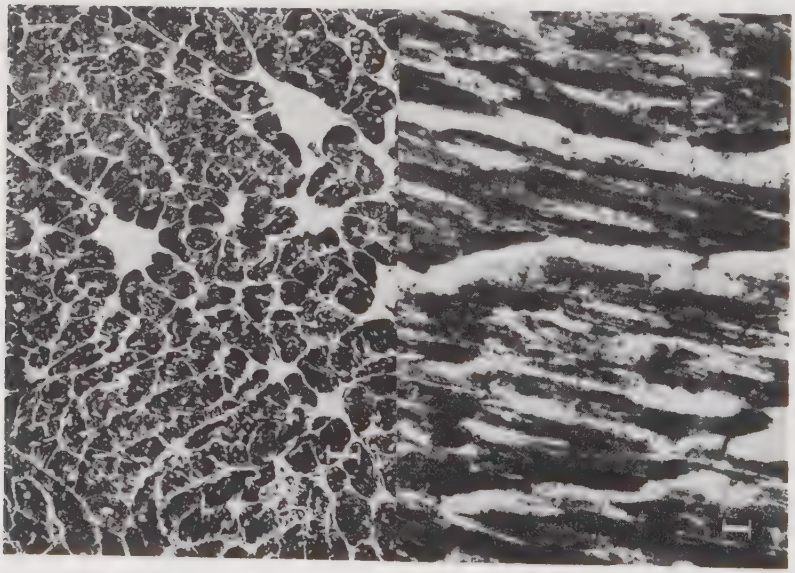


Abb. 5h: Alkalistabile Myofibrillar-ATPase bei KR

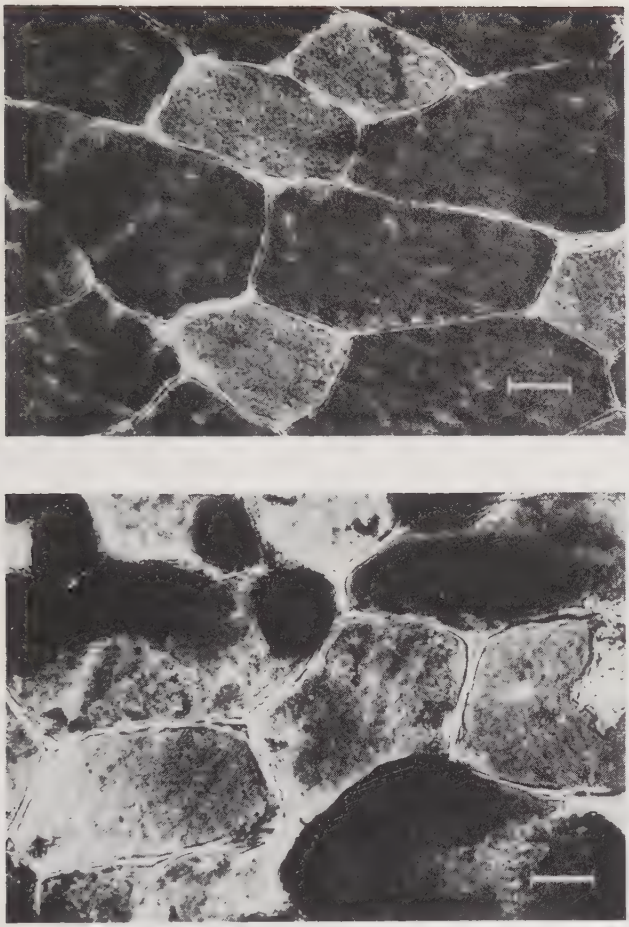


Abb. 6: Nachweis der säurestabilen Myofibrillar-ATPase an einem Querschnitt durch je einen langsamen Skelettmuskel (M.triceps surae, oben) und einen schnellen Skelettmuskel (M.extensor digitorum longus, unten). Der weiße Balken entspricht jeweils 20 µm.

Legende zu Abb.7 (S.115):

Typische LDH-Isoenzymverteilung im linken Ventrikel von Schwimmratten (SR, oben) und Kontrolltieren gleichen Alters (KR, unten).
Dargestellt sind PAA-Gele nach ca. 2-stündiger Elektrophorese, angefärbt auf LDH-Aktivität. Die Kurven zeigen den Absorptionsverlauf entlang des gefärbten Gels bei 550 nm. Die Isoenzyme wanderten von rechts nach links. Demnach lautet die Bezeichnung der Isoenzyme von rechts nach links: LDH-M_4, LDH-HM_3, LDH-H_2M_2, LDH-H_3M und LDH-H_4 .

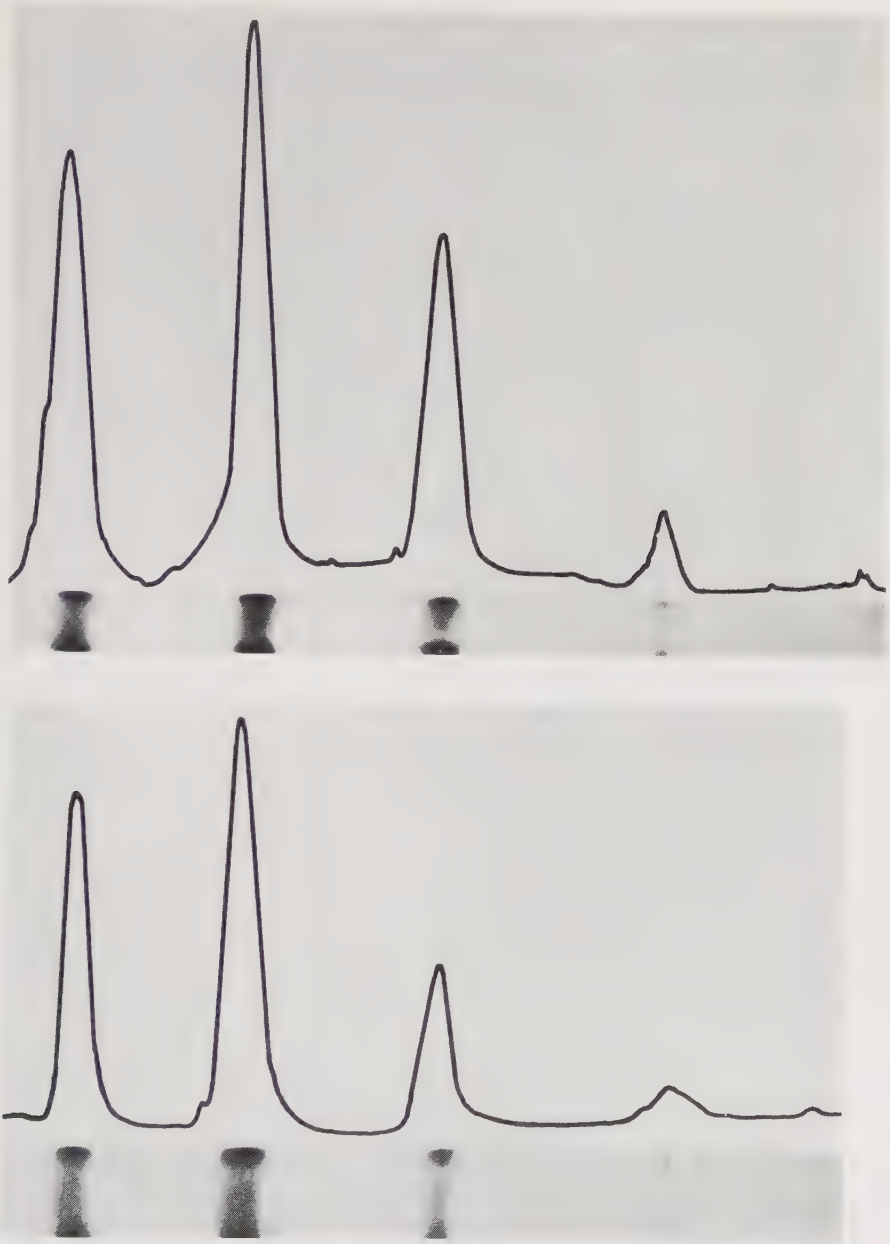


Abb. 7: LDH-Isoenzyme bei SR (oben) und KR (unten)

Legende zu Abb.8 (S.117):

Typische LDH-Isoenzymverteilung im linken Ventrikel von spontanhypertensiven (SHR, oben) und normotensiven Ratten (NTR, unten) gleichen Alters.
Dargestellt sind PAA-Gele nach ca. 2-stündiger Elektrophorese, angefärbt auf LDH-Aktivität. Die Kurven zeigen den Absorptionsverlauf entlang des gefärbten Gels bei 550 nm. Die Isoenzyme wanderten von rechts nach links. Demnach lautet die Bezeichnung der Isoenzyme von rechts nach links: LDH-M_4, LDH-HM_3, LDH-H_2M_2, LDH-H_3M und LDH-H_4 .

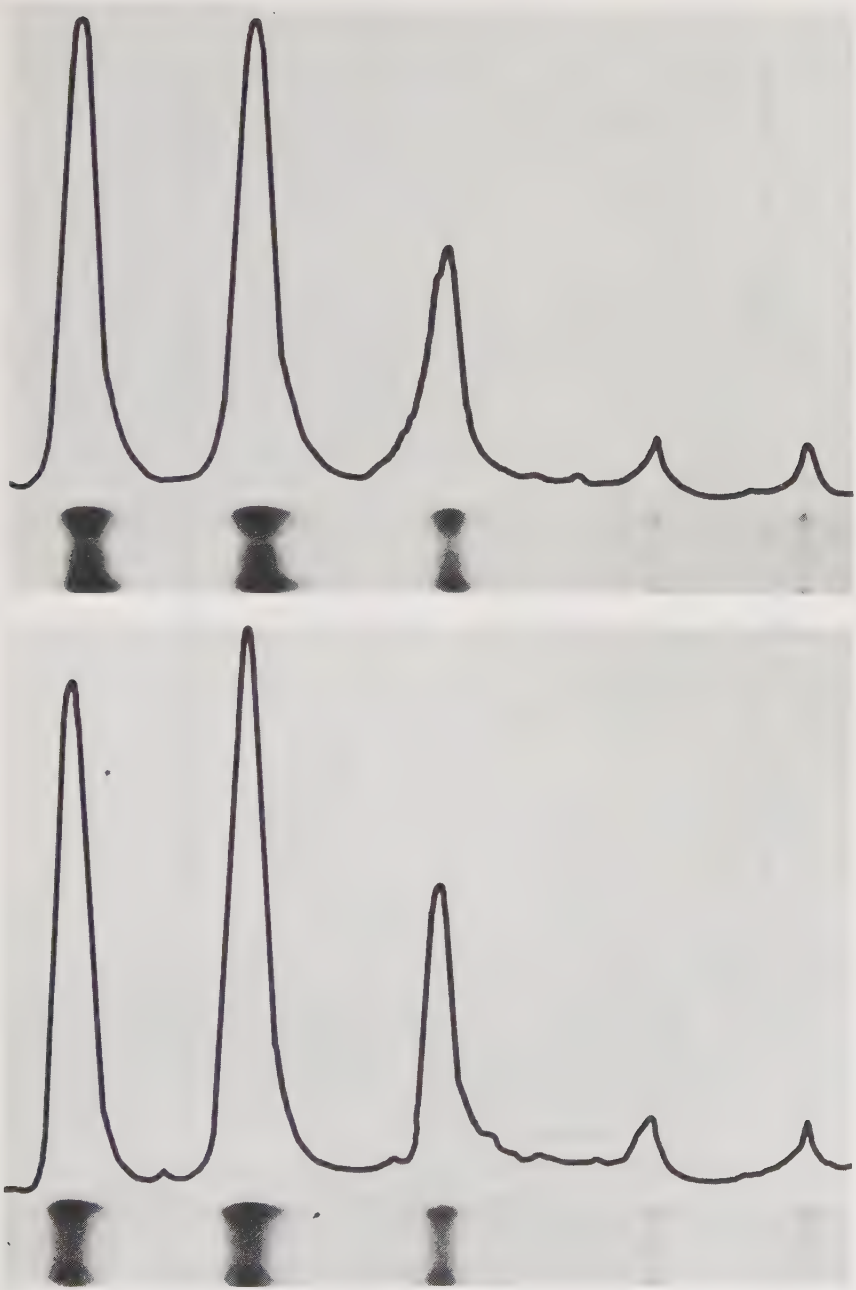


Abb. 8: LDH-Isoenzyme bei SHR (oben) und NTR (unten)

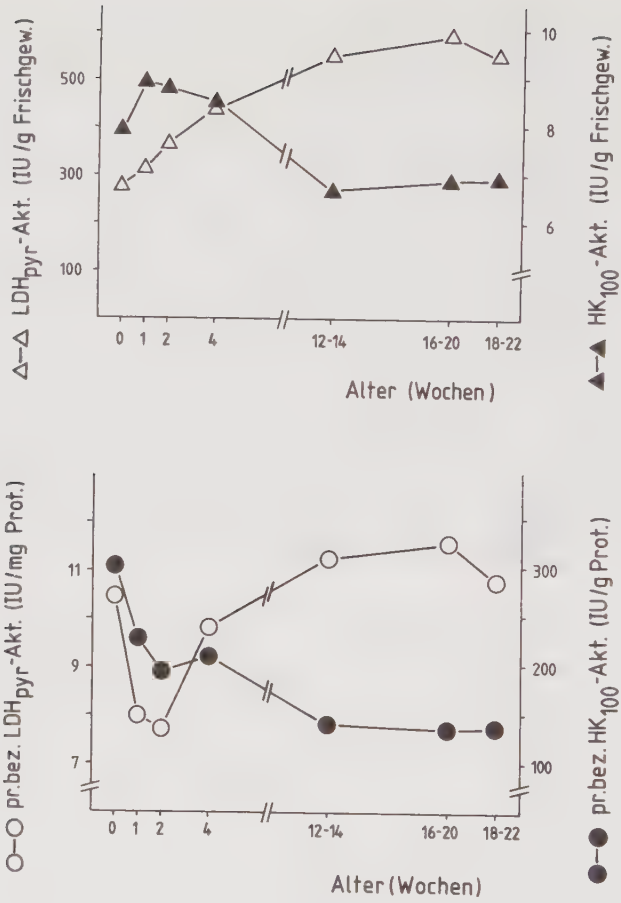


Abb. 9: Veränderungen der LDH_{pyr}- und HK_{100}-Enzymaktivitäten im linken Ventrikel während der postnatalen Entwicklung:
oben: bezogen auf das Frischgewicht des linken Ventrikels,
unten: bezogen auf das lösliche Protein im linken Ventrikel (pr.bez. Aktivität)

Legende zu Abb.10 (S.120-122):

Typische Verteilung der LDH-Isoenzyme im Myokard des linken Ventrikels von Wistarratten im Alter von

a) 0 Wochen (neugeborene Ratten, S.120 oben) und
   1 Woche (S.120 unten),
b) 2 Wochen (S.121 oben) und
   12-14 Wochen (S.121 unten),
c) 16-20 Wochen (ausgewachsene Ratten, S.122).

Dargestellt sind PAA-Gele nach ca. 2-stündiger Elektrophorese, angefärbt auf LDH-Aktivität. Die Kurven zeigen den Absorptionsverlauf entlang des gefärbten Gels bei 550 nm. Die Isoenzyme wanderten im elektrischen Feld von rechts nach links. Demnach lautet die Bezeichnung der Isoenzyme von rechts nach links: LDH-M_4, LDH-HM_3, LDH-H_2M_2, LDH-H_3M und LDH-H_4 .

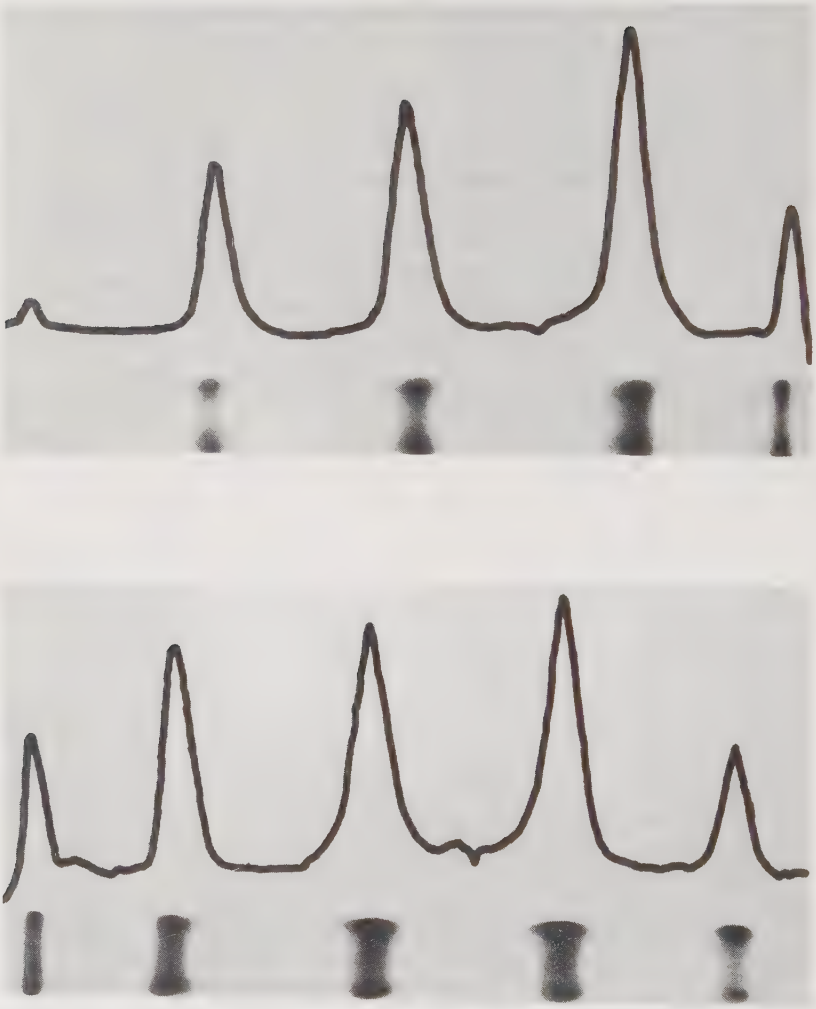


Abb. 10a: LDH-Isoenzyme bei Wistarratten im Alter von 0 Wochen (oben) und 1 Woche (unten)

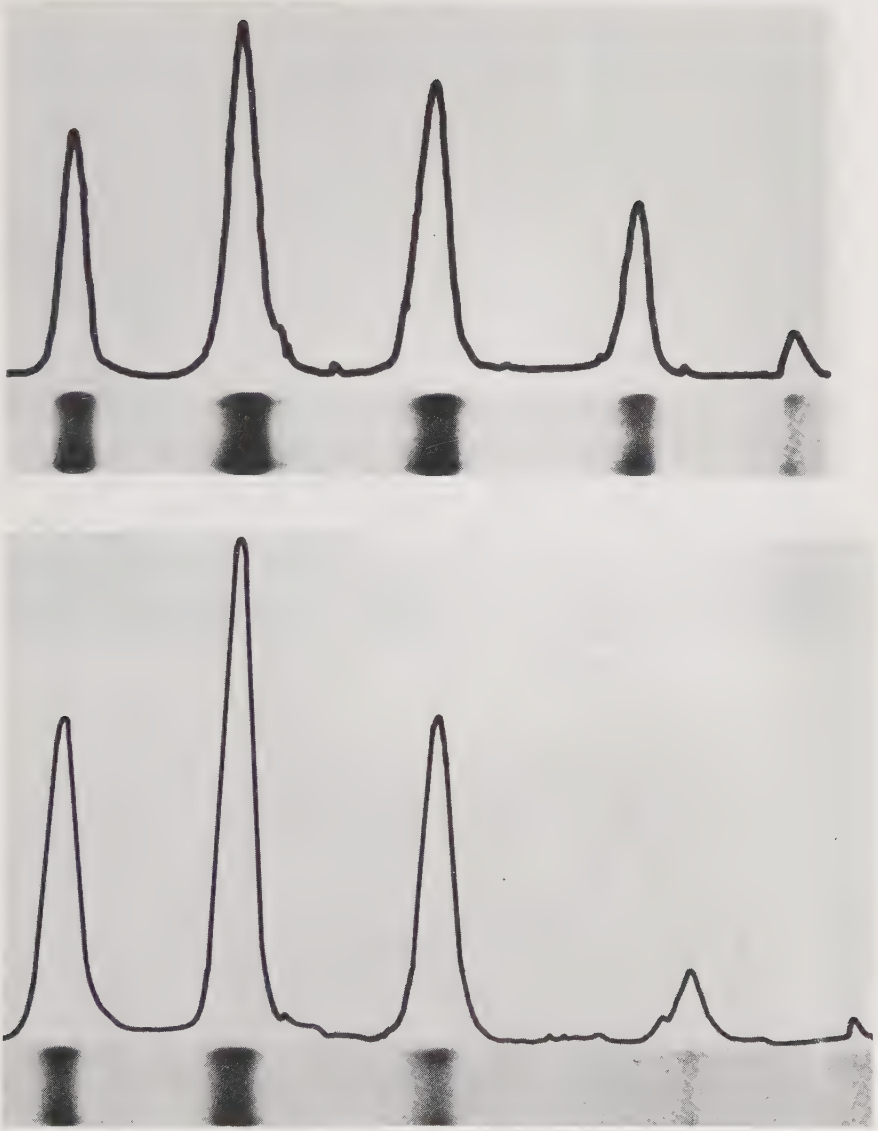


Abb. 10b: LDH-Isoenzyme bei Wistarratten im Alter von 2 Wochen (oben) und 12-14 Wochen (unten)

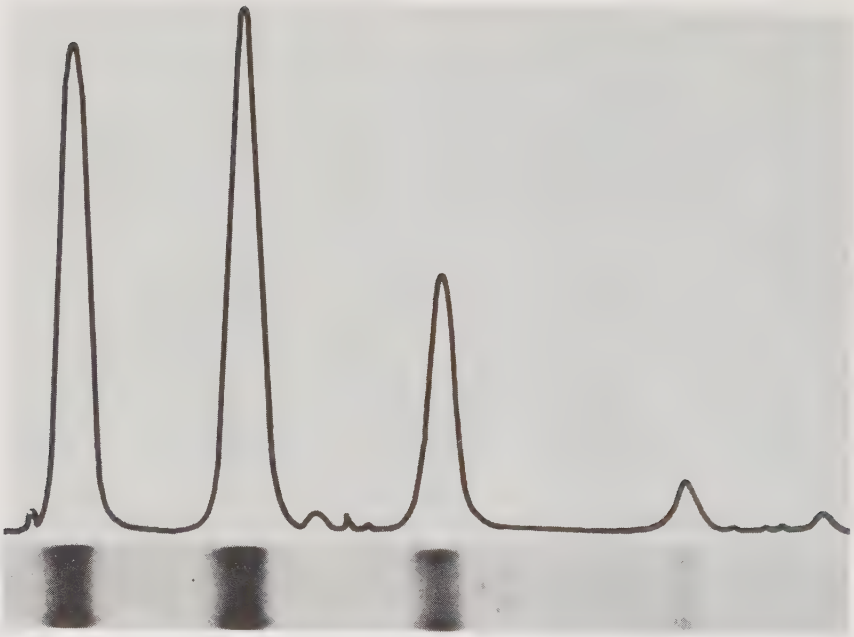


Abb. 10c: LDH-Isoenzyme bei 16-20 Wochen alten Wistarratten

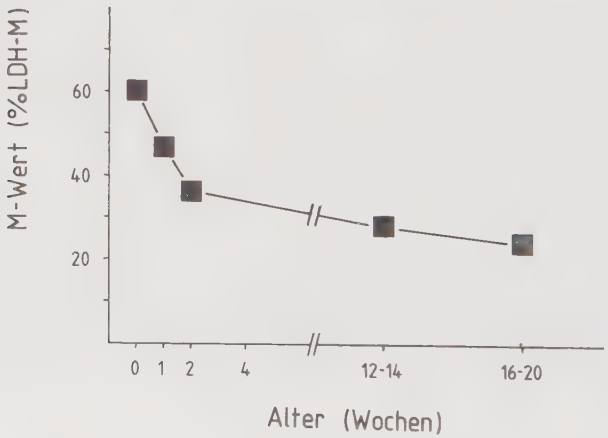


Abb. 11: M-Wert (s.3.1, S.36) im linken Ventrikel von Wistarratten unterschiedlichen Alters

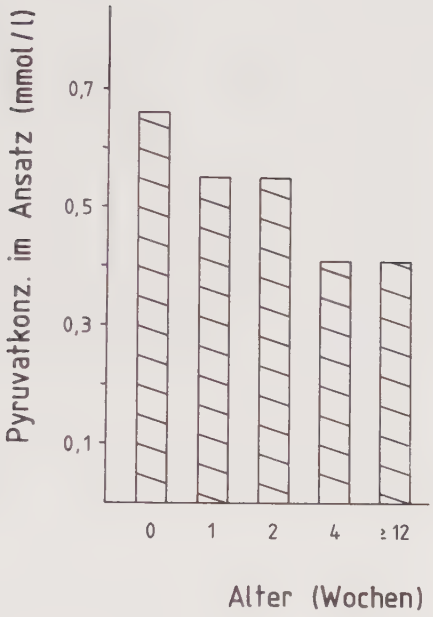


Abb. 12: Optimale Pyruvatkonzentrationen im Testansatz der LDH_{pyr}-Aktivitätsbestimmung bei Wistarratten unterschiedlichen Alters

Legende zu Tab.1 (S.125):

Anatomische Parameter bei Goldblatt- und Kontrollratten 4-6 Wochen (GBR_5 bzw. KR_5), 8-12 Wochen (GBR_{10} bzw. KR_{10}) und 10-14 Wochen (GBR_{12} und KR_{12}) nach der Operation: Körpergewicht (KG), Gewicht des linken Ventrikels (LV) und des rechten Ventrikels (RV), Anteil des Gewichts des linken Ventrikels am Körpergewicht (linksventrikulärer Index LV/KG) und Quotient aus dem Gewicht des linken und des rechten Ventrikels (LV/RV).
Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen des Mittelwerts sowie Fallzahlen (in Klammern). "$p <$ " gibt die Irrtumswahrscheinlichkeit nach dem Student-t-Test an, "n.s." bedeutet $p > 0{,}05$.

Tabelle 1 (Legende s.S. 124)

		KG (g)	LV (mg)	RV (mg)	LV/KG (‰)	LV/RV
GBR_5	(18)	235 ± 53	729 ± 89	168 ± 28	3,18 ± 0,40	4,38 ± 0,29
KR_5	(18)	354 ± 31	656 ± 60	174 ± 19	1,89 ± 0,11	3,80 ± 0,37
prozentuale Veränderung		- 34	+ 11	- 3	+ 68	+ 15
p <		0,001	0,01	n.s.	0,001	0,001
GBR_{10}	(15)	318 ± 74	1021 ± 160	203 ± 31	3,22 ± 0,66	5,10 ± 0,86
KR_{10}	(20)	379 ± 34	724 ± 70	192 ± 24	1,91 ± 0,09	3,80 ± 0,32
prozentuale Veränderung		- 16	+ 41	+ 6	+ 74	+ 34
p <		0,01	0,001	n.s.	0,001	0,001
GBR_{12}	(19)	321 ± 57	920 ± 117	249 ± 49	2,99 ± 0,58	3,52 ± 0,30
KR_{12}	(13)	346 ± 37	656 ± 76	181 ± 28	1,90 ± 0,20	3,68 ± 0,58
prozentuale Veränderung		- 7	+ 40	+ 38	+ 57	- 4
p <		n.s.	0,001	0,001	0,001	n.s.

Tabelle 2: Enzymaktivitäten pro g Frischgewicht (FG), Gehalt an löslichem Protein und Anteil der M-Untereinheiten an der LDH-Gesamt-Aktivität (M-Wert) im linken Ventrikel von GBR und KR. Zu den Abkürzungen vgl. Legende zu Tab. 1 (S. 124) und das Abkürzungsverzeichnis.

	HOADH (IU/g FG)	CS (IU/g FG)	HK 0,5 (IU/g FG)	HK 100 (IU/g FG)
GBR_5 (16)	3,37 ± 0,56	142 ± 12	6,95 ± 0,66	8,00 ± 0,83
KR_5 (17)	5,16 ± 0,51	155 ± 12	5,75 ± 0,43	6,68 ± 0,44
prozentuale Veränderung	- 35	- 8	+ 21	+ 20
p <	0,001	0,01	0,001	0,001
GBR_{10} (14)	3,53 ± 0,55	135 ± 11	7,86 ± 0,72	8,45 ± 0,69
KR_{10} (19)	5,73 ± 0,50	157 ± 8	6,06 ± 0,39	6,90 ± 0,29
prozentuale Veränderung	- 38	- 14	+ 30	+ 22
p <	0,001	0,001	0,001	0,001
GBR_{12} (20)				7,87 ± 1,32
KR_{12}				6,92 ± 0,38
prozentuale Veränderung				+ 14
p <				0,01

Fortsetzung s.S. 127

Tabelle 2 (Fortsetzung von S. 126):

		LDH_{pyr} (IU/g FG)	lösl.Prot. (mg/g FG)	M-Wert (% LDH-M)	HK 100 / HK 0,5
GBR_5	(16)	581 ± 31	44,4 ± 2,0	28,2 ± 1,6	1,17 ± 0,05
KR_5	(17)	548 ± 30	48,9 ± 3,0	28,1 ± 2,0	1,18 ± 0,06
prozentuale Veränderung		+ 6	- 9	± 0	- 1
p <		0,01	0,001	-	n.s.
GBR_{10}	(14)	586 ± 42	46,7 ± 2,9	25,3 ± 1,9	1,08 ± 0,04
KR_{10}	(19)	591 ± 29	51,4 ± 2,0	23,8 ± 1,6	1,14 ± 0,05
prozentuale Veränderung		- 1	- 9	+ 6	- 5
p <		n.s.	0,001	0,05	0,001
GBR_{12}	(20)	505 ± 36	44,0 ± 3,3		
KR_{12}	(13)	543 ± 42	50,1 ± 3,7		
prozentuale Veränderung		- 7	- 12		
p <		0,05	0,001		

Legende zu Tab. 3 (S. 129):

Enzymaktivitäten bezogen auf das lösliche Protein (LP) des linken Ventrikels (proteinbezogene Aktivitäten) bei GBR und KR verschiedener Hypertrophiestadien. Zu den Abkürzungen vgl. Legenden zu Tab. 1 und 2 (S. 124 und 126) sowie das Abkürzungsverzeichnis.

Tabelle 3
(Legende s.S. 128)

		HOADH/P (IU/g LP)	CS/P (IU/mg LP)	HK 0,5/P (IU/g LP)	HK 100/P (IU/g LP)	LDH_{pyr}/P (IU/mg LP)
GBR_5	(14)	76 ± 15	3,30 ± 0,16	157 ± 20	180 ± 23	13,1 ± 0,7
KR_5	(17)	107 ± 10	3,12 ± 0,21	118 ± 10	139 ± 13	11,2 ± 0,7
prozentuale Veränderung		- 29	+ 6	+ 33	+ 29	+ 17
p <		0,001	0,05	0,001	0,001	0,001
GBR_{10}	(14)	76 ± 11	2,88 ± 0,15	168 ± 17	181 ± 18	12,6 ± 0,9
KR_{10}	(19)	111 ± 7	3,02 ± 0,19	118 ± 7	134 ± 6	11,5 ± 0,7
prozentuale Veränderung		- 32	- 5	+ 42	+ 35	+ 10
p <		0,001	0,05	0,001	0,001	0,001
GBR_{12}	(20)				180 ± 35	11,5 ± 1,1
KR_{12}	(13)				136 ± 17	10,7 ± 1,6
prozentuale Veränderung					+ 32	+ 7
p <					0,001	0,05

Tabelle 4: Anatomische Parameter der Schwimmratten (SR) im Vergleich mit den gleichaltrigen Kontrolltieren (KR). Abkürzungen siehe Legende zu Tab. 1 (S. 124).

		KG (g)	LV (mg)	RV (mg)	LV/KG (‰)	LV/RV
SR	(14)	379 ± 38	702 ± 61	241 ± 45	1,86 ± 0,16	3,00 ± 0,55
KR	(20)	414 ± 50	709 ± 66	213 ± 29	1,72 ± 0,16	3,38 ± 0,47
prozentuale Veränderung		- 8	- 1	+ 13	+ 8	- 11
p <		0,05	n.s.	0,05	0,05	0,05

Tabelle 5: Enzymaktivitäten pro g Frischgewicht (FG), Gehalt an löslichem Protein und Anteil der M-Untereinheiten an der LDH-Gesamtaktivität (M-Wert) im linken Ventrikel von Schwimmratten (SR) und entsprechenden Kontrollen (KR). Zu den Abkürzungen vgl. Tab. 2 (S. 126) und das Abkürzungsverzeichnis.

		HOADH (IU/g FG)	CS (IU/g FG)	HK 0,5 (IU/g FG)	HK 100 (IU/g FG)
SR	(14)	6,87 ± 0,64	154 ± 8	5,06 ± 0,30	5,73 ± 0,41
KR	(20)	7,41 ± 0,83	156 ± 9	5,70 ± 0,49	6,36 ± 0,60
prozentuale Veränderung		- 7	- 1	- 11	- 10
p <		0,05	n.s.	0,001	0,01

		LDH_{pyr} (IU/g FG)	lösl. Prot. (mg/g FG)	M-Wert (% LDH-M)	HK 100 / HK 0,5
SR	(14)	510 ± 20	50,9 ± 2,7	27,5 ± 2,3	1,13 ± 0,05
KR	(20)	487 ± 25	52,7 ± 2,3	25,6 ± 2,6	1,14 ± 0,05
prozentuale Veränderung		+ 5	- 3	+ 7	- 1
p <		0,01	0,05	0,05	n.s.

Tabelle 6: Enzymaktivitäten bezogen auf das lösliche Protein (LP) des linken Ventrikels (proteinbezogene Aktivitäten) bei Schwimmratten (SR) und Kontrollen (KR). Zu den Abkürzungen vgl. Legende zu Tab. 1 (S. 124) sowie das Abkürzungsverzeichnis.

		HOADH/P (IU/g LP)	CS/P (IU/mg LP)	HK 0,5/P (IU/g LP)	HK 100/P (IU/g LP)	LDH_{pyr}/P (IU/mg LP)
SR	(14)	135 ± 12	3,05 ± 0,22	100 ± 9	113 ± 11	10,1 ± 0,7
KR	(20)	141 ± 14	2,93 ± 0,11	108 ± 8	121 ± 10	9,6 ± 1,8
prozentuale Veränderung		- 4	+ 4	- 7	- 7	+ 5
p <		n.s.	n.s.	0,05	0,05	n.s.

Tabelle 7: Anatomische Parameter von spontanhypertensiven (SHR) und Kontrollratten (NTR) im Alter von 10 Monaten. Zu den Abkürzungen vgl. Legende zu Tab. 1 (S. 124).

		KG (g)	LV (mg)	RV (mg)	LV/KG (‰)	LV/RV
SHR	(9)	352 ± 32	1435 ± 239	298 ± 58	3,89 ± 0,59	4,79 ± 0,42
NTR	(9)	402 ± 43	837 ± 89	199 ± 19	2,15 ± 0,21	4,24 ± 0,55
prozentuale Veränderung		- 12	+ 71	+ 50	+ 81	+ 13
p <		0,05	0,001	0,01	0,001	n.s.

Tabelle 8: LDH_{pyr}- und LDH_{lac}-Aktivitäten (bezogen auf das Frischgewicht) sowie Beitrag der M-Untereinheiten zur LDH-Gesamtaktivität (M-Wert) im Septum von Spontanhypertensiv (SHR)- und entsprechenden Kontrollratten (NTR). Zu den Abkürzungen vgl. Legende zu Tab. 1 und Tab. 2 (S. 124 und 126).

		LDH_{pyr} (IU/g FG)	LDH_{lac} (IU/g FG)	M-Wert (% LDH-M)
SHR	(8)	394 ± 80	82,4 ± 15,9	26,6 ± 1,7
NTR	(9)	397 ± 39	83,9 ± 7,9	24,8 ± 2,5
prozentuale Veränderung		- 1	- 2	+ 7
p <		n.s.	n.s.	n.s.

Tabelle 9: Körpergewicht (KG), Anzahl der Proben (n), Gewicht des linken Ventrikels (LV), linksventrikulärer Index (LV/KG) und Konzentration des löslichen Proteins im linken Ventrikel bei Wistarratten im Alter von 0 bis 12 Wochen. Dabei entsprechen die 10-14 Wochen alten Tiere den KR_5, die 16-20 Wochen alten den KR_{10} und die 18-22 Wochen alten den KR_{12} aus dem Goldblatt-Untersuchungsprogramm. Angegeben sind jeweils Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwertes. Weitere Abkürzungen s.Tab. 2 (S. 126).

Alter (Wochen)	n	KG (g)	LV (mg)	LV/KG (‰)	lösl.Prot. (mg/g FG)
0	36	5,58 ± 0,73	20,0 ± 2,9	3,59 ± 0,55	26,4 +) ± 3,1
1	12	13,1 ± 1,0	52,0 ± 2,8	3,98 ± 0,26	38,9 ± 2,7
2	10	34,8 ± 5,6	126 ± 13	3,66 ± 0,33	47,5 ± 2,7
4	14	83 ± 11	256 ± 35	3,10 ± 0,12	45,0 ± 4,5
12-14	18	354 ± 31	656 ± 60	1,89 ± 0,11	48,9 ± 3,0
16-20	20	379 ± 34	724 ± 70	1,91 ± 0,09	51,4 ± 2,0
18-22	13	346 ± 37	656 ± 76	1,90 ± 0,20	50,1 ± 3,7

+) nur 12 Proben, da gepoolt werden mußte.

7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ATPase	Adenosin-Triphosphatase (E.C. 3.6.1.3)
Bis	N,N'-Methylenbisacrylamid
CS	Citratsynthase (E.C. 4.1.3.7)
DTNB	5,5'-Dithio-bis(-2-nitrobenzoesäure)
GBR	Goldblattratte(n) (zum Index vgl. 3.1, S. 36)
HK	Hexokinase (E.C. 2.7.1.1)
HOADH	Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase (E.C. 1.1.1.35)
KR	Kontrollratte(n) (zum Index vgl. 3.1, S. 36)
LDH	Lactatdehydrogenase (E.C. 1.1.1.27)
LDH_{lac}-Aktivität	Aktivität der LDH bei der Lactatoxidation (vgl. 2.2.2.6, S. 24)
LDH_{pyr}-Aktivität	Aktivität der LDH bei der Pyruvatreduktion (vgl. 2.2.2.6, S. 24)
M-Wert	rechnerischer Anteil der M-Untereinheiten der LDH an der LDH_{lac}-(Gesamt-)Aktivität (vgl. 3.1, S. 36)
NAD	ß-Nicotinamid-adenin-dinucleotid
$NADH_2$	ß-Nicotinamid-adenin-dinucleotid, reduziert
NADP	ß-Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat
$NADPH_2$	ß-Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat, reduziert
NASAC	N-Acetyl-S-acetacetylcysteamin
Nitro-BT	p-Nitroblautetrazoliumchlorid
NTR	normotensive Ratte(n) (Kontrollen zu SHR)
PMS	Phenazinmethosulfat
SDH	Succinatdehydrogenase (E.C. 1.3.99.1)
SHR	Spontanhypertensivratte(n)
SR	Schwimmratte(n)
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethyläthylendiamin

8. LITERATURVERZEICHNIS

1 ALBIN, R., R.T.DOWELL, R.ZAK, M.RABINOWITZ: Synthesis and degradation of mitochondrial components in hypertrophied rat heart. Biochem.J., 136, 629-637 (1973).

2 AMADOR, E., L.E.DORFMAN, W.E.C.WACKER: Serum lactic dehydrogenase activity: an analytical assessment of current assays. Clin.Chem. 9, 391-399 (1963).

3 ARCOS, J.C., R.S.SOHAL, S.-C.SUN, M.F.ARGUS, G.E.BURCH: Changes in ultastructure and respiratory control in mitochondria of rat heart hypertrophied by exercise. Exptl.Mol. Pathol. 8, 49-65 (1968).

4 BALDWIN, K.M., D.A.COOKE, W.G.CHEADLE: Time course adaptations in cardiac and skeletal muscle to different running programs. J.Appl.Physiol. 42, 267-272 (1977).

5 BALDWIN, K.M., W.W.WINDER, R.L.TERJUNG, J.O.HOLLOSZY: Glycolytic enzymes in different types of skeletal muscle: adaptation to exercise. Am.J.Physiol. 225, 962-966 (1973).

6 BALDWIN, K.M., D.A.COOKE, W.G.CHEADLE: Enzyme alterations in neonatal heart muscle during development. J.Mol.Cell.Cardiol. 9, 651-660 (1977).

7 BALDWIN, K.M., W.W.WINDER, J.O.HOLLOSZY: Adaptation of actomyosin ATPase in different types of muscle to endurance exercise. Am.J.Physiol. 229, 422-426 (1975).

8 BALLO, J.M., J.V.MESSER: Lactate dehydrogenase isoenzymes in human hearts having decreased oxygen supply. Biochem.Biophys.Res.Comm. 33, 487-491 (1968).

9 BARAKAT, H., W.BROWN, S.D.HENRY: Studies of fatty acid oxidation in homogenates of the cardiomyopathic hamster. Life Sci., 23, 1835-1840 (1978).

10 BASS, A., D.BRDICZKA, P.EYER, S.HOFER, D.PETTE: Metabolic differentiation of distinct muscle types at the level of enzymatic organization. Eur.J.Biochem. 10, 198-206 (1969).

11 BEISENHERZ, G., H.J.BOLTZE, TH.BÜCHER, R.CZOK, K.H.GARBADE, E.MEYER-ARENDT, G.PFLEIDERER: Diphosphofructose-Aldolase, Phosphoglyceraldehyd-Dehydrogenase, Milchsäure-Dehydrogenase, Glycerophosphat-Dehydrogenase und Pyruvat-Kinase aus Kaninchenmuskulatur in einem Arbeitsgang. Z.Naturforschg. 8b, 555-557 (1953).

12 BERGMEYER, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse. Verlag Chemie, Weinheim (1974), pp. 503-504 .

12a ders., p. 685.

13 BHAN, A., J.SCHEUER: Effects of physical training on cardiac actomyosin adenosine triphosphatase activity. Am.J.Physiol. 223, 1486-1490 (1972).

14 BING, O.H.L., S.MATSUSHITA, B.L.FANBURG, H.J.LEVINE: Mechanical properties of rat cardiac muscle during experimental hypertrophy. Circ.Res. 28, 234-245 (1971).

15 BISHOP, S.P., R.A.ALTSCHULD: Increased glycolytic metabolism in cardiac hypertrophy and congestive failure. Am.J.Physiol. 218, 153-159 (1970).

16 BOLL, M.P.: Untersuchungen zur Wechselwirkung zwischen der Lactatdehydrogenase und ihren Antikörpern. Diss. Bochum (1974).

17 BRAIMBRIDGE, M.V., S.DARRACOTT, J.CHAYEN, L.BITENSKY: A cellular chemical comparison of left ventricular wall myocardium and papillary muscle in man. J.Thorac.Cardiovasc Surg. 65, 722-726 (1973).

18 BRASWELL, E.H.: Subunit interaction in lactate dehydrogenase. in: C.L.Markert (ed.): Isozymes I (Molecular structure). Academic Press, New York (1975), pp. 118-135.

19 BREMER, J., R.Z.CHRISTIANSEN, B.BORREBAEK: Control of ß-oxidation. Biochem.Soc. Transact. 6, 83-84 (1978).

20 BRIGHT, R.: Cases and observations illustrative of renal disease accompanied with the secretion of albumious urine. Guy's Hospital Reports 1, 338-400 (1836).

21 BUDDECKE, E.: Lehrbuch der Biochemie, 4.Aufl., De Gruyter, Berlin (1974).

22 BURGNER II, J.W., G.R.AINSLIE, W.W.CLELAND, W.J.RAY: Bimodal substrate inhibition of lactate dehydrogenase. Factors affecting the enzyme in vivo. Biochemistry 17, 1646-1653 (1978).

23 CHAYEN, J., F.P.ALTMANN, L.BITENSKY, M.V.BRAIMBRIDGE, T.KADAS, P.J.WELLS: A study of the changes in hydrogen transport in an isolated rat heart preparation. J.Royal Microsc.Soc. 86, 151-158 (1966).

24 CRYER, A., W.BARTLEY: The enzymic make-up of the left and right ventricles of the normal rat heart and the changes shown on exposure to exercise and hypoxic exercise. J.Mol.Cell. Cardiol. 6, 61-71 (1974).

25 DART, Ch.H., J.O.HOLLOSZY: Hypertrophied non-failing rat heart. Circ.Res. 25, 245-253 (1969).

26 DIETZ, A.A., T.LUBRANO: Separation and quantitation of lactic dehydrogenase isoenzymes by disc electrophoresis. Analyt.Biochem. 20, 246-257 (1967).

27 DOWELL, R.T.: Transmural citrate synthase and lactate dehydrogenase levels in hypertrophied rat left ventricle. Proc.Soc.Exptl.Biol.Med. 158, 599-603 (1978).

28 EATON, G.M., G.J.BREWER, R.E.TASHIAN: Hexokinase isozyme patterns of human erythrocytes and leucocytes. Nature 212, 944-946 (1966).

29 EDWARDS, G.A., C.E.CHALLICE: The fine structure of cardiac muscle cells of newborn and suckling mice. Exptl.Cell.Res. 15, 247-250 (1958).

30 EL-FAKHRI, M., B.MIDDLETON: The existence of two different h-3-hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenases in rat tissues. Biochem.Soc. Transact. 7, 392-393 (1979).

31 ELLMAN, G.L.: A colorimetric method for determining low concentrations of mercaptans. Arch.Biochem. Biophys. 74, 443-450 (1958).

32 EVERSE, J., N.O.KAPLAN: Lactate dehydrogenases: Structure and function. Advan.Enzymol. 37, 61-133 (1973).

33 FALKENBERG, F.: Die Isoenzyme der Lactatdehydrogenase als Ursache für unspezifische Tetrazoliumsalz-Anfärbungen in Gelzymogrammen und die Isoenzyme der Hexokinase aus Schweinegeweben. Isolierung, biochemische und immunologische Charakterisierung. Diss. Bochum (1971).

34 FELDMAN, M.J., D.H.RUSSELL: Polyamine biogenesis in left ventricle of the rat heart after aortic constriction. Am.J.Physiol. 222, 1199-1203 (1972).

35 FINE, I.H., N.O.KAPLAN, D.KUFTINEC: Developmental changes of mammalian lactic dehydrogenases. Biochemistry 2, 116-121 (1963).

36 FIZEL, A., A.FIZELOVA: Cardiac hypertrophy and heart failure: dynamics of changes in high-energy phosphate compounds, glycogen and lactic acid. J.Mol.Cell.Cardiol. 2, 187-192 (1971).

37 FROHLICH, D., C.TARAZI: Is arterial pressure the sole factor responsible for hypertensive cardiac hypertrophy? Am.J.Cardiol. 44, 959-963 (1979).

38 GAMBLE, W.J., C.UHORNPHUTKUL, A.E.KUMAR, G.L.SANDERS, F.J.MANASEK, R.G.MONROE: Ventricular performance, coronary flow, and $M\dot{V}_{O2}$ in aortic coarctation hypertrophy. Am.J.Physiol. 224, 877-883 (1973).

39 GASSENMAIER, Th.: Untersuchungen zur Mechanik des hypertrophierten linken Ventrikels beim Rattenherzen nach experimentellem renalem Hypertonus. Diss. Tübingen (1976).

40 GAVRAS, H., W.C.B.BROWN, J.J.BROWN, A.F.LEVER, A.L.LINTON, R.F.MC ADAM, G.P.MC NICOL, J.I.S.ROBERTSON, CH.WARDROP: Microangiopathic hemolytic anemia and the development of the malignant phase of hypertension. Circ.Res. 28/29, 127-141 (1971).

41 GRIMM, A.F., R.KUBOTA, W.V.WHITEHORN: Properties of myocardium in cardiomegaly. Circ.Res. 12, 118-124 (1963).

42 GROSSBARD, L., R.T.SCHIMKE: Multiple hexokinases of rat tissues - purification and comparison of soluble forms. J.Biol.Chem. 241, 3546-3560 (1966).

43 GÜLCH, R.W., R.BAUMANN, R.JACOB: Analysis of myocardial action potential in left ventricular hypertrophy of Goldblatt rats. Basic.Res. Cardiol. 74, 69-82 (1979).

44 HAGMANN, B.: Enzymhistochemische Untersuchungen am Innenohr des Frosches, Rana temporavia. Diss. Tübingen (1977).

45 HAMMOND, G.L., B.NADAL-GINARD, N.S.TALNER, G.L.MARKERT: Myocardial LDH isoenzyme distribution in the ischemic and hypoxic heart. Circulation 53, 637-643 (1976).

46 HATEFI, Y., D.L.STIGGALL: Metal-containing flavoprotein dehydrogenases (III.Succinate dehydrogenases). in: Boyer, P.D. (ed.): The enzymes, 3rd ed., Vol. XIII. Academic Press, New York (1976), pp. 175-297.

47 HEARN, G.R., W.W.WAINIO: Succinic dehydrogenase activity of the heart and skeletal muscle of exercised rats. Am.J.Physiol. 185, 348-350 (1956).

48 HEARN, G.R., W.W.WAINIO: Aldolase activity of the heart and skeletal muscle of exercised rats. Am.J.Physiol. 190, 206-208 (1957).

49 HELMCHEN, U.: Renale Hypertonie bei einseitiger Nierenarteriendrosselung und erhaltener kontralateraler Niere. Habilitationsschrift Tübingen (1973).

50 HENSCHEN, S.W.: Skilauf und Skiwettlauf, eine medizinische Sportstudie. Mitteilungen aus der Med.Klinik in Uppsala, Bd.2, Jena (1899). Zit.in: Reindell, H., R.Weyland, H.Klepzig, K.Muschoff, E.Schildge: Das Sportherz. Ergebn. inn.Med.Kinderheilk., Neue Folge, 5.Bd., 306-359 (1954).

51 HEPP, A., M.HANSIS, R.GÜLCH, R.JACOB: Left ventricular isovolumetric pressure-volume relations, "diastolic tone", and contractility in the rat heart after physical training. Bas.Res.Cardiol. 69, 516-532 (1974).

52 HODGINS, D.S., E.D.FROHLICH: Cardiac adenylate cyclase, cyclic nucleotide phosphodiesterase and lactate dehydrogenase in normotensive and spontaneously hypertensive rats. Biochem. Pharmacol. 27, 1179-1185 (1978).

53 HOLTZ, J., W.v.RESTORFF, P.BARD, E.BASSENGE: Transmurale Verteilung der Myokarddurchblutung und der Koronarreserve in Hunden mit Hypertrophie des linken Ventrikels. Basic Res.Cardiol. 72, 286-292 (1977).

54 HOLUBARSCH, CH., R.JACOB: Evaluation of elastic properties of myocardium. Experimental models of fibrosis and contracture in heart muscle strips. Z.Kardiol. 68, 123-127 (1979).

55 HOPKINS, S.F., E.P.MC CUTCHEON, D.R.WEKSTEIN: Postnatal changes in rat ventricular function. Circ.Res. 23, 685-691 (1973).

56 HORT, W.: Kreislauforgane. in: Eder, M., P.Gedigk (Hrsg.): Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie, 30.Aufl. Springer, Berlin (1977), pp. 312/313.

57 HSU, K.-H.L., G.L.POWELL: Inhibition of citrate synthase by oleoyl-CoA: a regulatory phenomenon. Proc.Natl.Acad.Sci.USA 72, 4729-4733 (1975).

58 HULTIN, H.O.: Effect of enviroment on kinetic characteristics of chicken lactate dehydrogenase Isozymes. in: C.L.Markert (ed.): Isozymes II (Physiolgical function). Academic Press, New York (1975), pp. 69-85.

59 INAMDAR, A.N., O.H.L.BING, J.V.MESSER: Lactate dehydrogenase isoenzymes in rats with left ventricular hypertrophy. Res.Comm.Chem.Path. Pharm. 2, 52-61 (1971).

60 JACOB, R., G.EBRECHT, A.KÄMMEREIT, I.MEDUGORAC, M.F.WENDT-GALLITELLI: Myocardial function in different models of cardiac hypertrophy. Basic Res.Cardiol. 72, 160-167 (1977).

61 JACOB, R., G.KISSLING: Left ventricular dynamios and myocardial function in Goldblatt hypertension of the rat. Biochemical, morphological and electrophysiological correlates. in: Strauer, B.E. (ed.): The heart in hypertension. Springer, Berlin (1981), pp. 89-107.

62 JUNGERMANN, H., O.v.DEIMLING, W.SANDRITTER: Lactate dehydrogenase isoenzymes in human hearts with hypertrophy, dilation and coronary atherosclerosis. Beitr.Path. 146, 122-131 (1972).

63 KÄMMEREIT, A., I.MEDUGORAC, E.STEIL, R.JACOB: Mechanics of the isolated ventricular myocardium of rats conditioned by physical training. Basic Res.Cardiol. 70, 495-507 (1975).

64 KANUNGO, M.S., S.N.SINGH: Effect of age on the isozymes of lactic dehydrogenase of the heart and the brain of rat. Biochem.Biophys.Res. Com 21, 454-459 (1965).

65 KATZEN, H.M., R.T.SCHIMKE: Multiple forms of hexokinase in the rat: tissue distribution, age dependency, and properties. Proc.Natl. Acad.Sci.USA 54, 1218-1225 (1965).

66 KATZEN, H.M., D.D.SODERMAN: The hexokinase isozymes: sulphydryl considerations in the regulation of the particle-bound and soluble states. in: C.L.Markert (ed.): Isozymes II (Physiological function). Academic Press, New York (1975), pp. 796-817.

67 KATZEN, H.M., D.D.SODERMAN, CH.E.WILLEY: Multiple forms of hexokinase. J.Biol.Chem. 245, 4081-4096 (1970).

68 KEUL, J., E.DOLL, H.STEIM, U.FLEER, H.REINDELL: Über den Stoffwechsel des menschlichen Herzens III. Der oxydative Stoffwechsel des menschlichen Herzens unter verschiedenen Arbeitsbedingungen. Pflügers Arch. 282, 43-53 (1965).

69 KIM, H.D., W.F.H.M.MOMMAERTS: On the reconstitution of rabbit myosin from fast and slow muscle. Biochim.Biophys.Acta 245, 230-234 (1971).

70 KISSLING, G.: Oxygen consuption and substrate uptake of the hypertrophied rat heart in situ. Basic Res.Cardiol. 75, 185-192 (1980).

71 KÖHLER, U., I.MEDUGORAC: The behavior of some enzymes of the hypertrophied and postnatally developing myocardium of the rat. Basic Res. Cardiol. 75, 214-220 (1980).

72 KOWALEWSKI, S.L.: Die Isoenzyme der Lactatdehydrogenase. Stuttgart, Thieme (1972).

73 KUBISTA, V., J.KUBISTOVA, D.PETTE: Thyroid hormone induced changes in the enzyme activity pattern of energy-supplying metabolism of fast (white), slow (red), and heart muscle of the rat. Eur.J.Biochem. 18, 553-560 (1971).

74 KUN, E., A.C.Y.CHANG, M.L.SHARMA, A.M.FERRO, D.NITECKI: Covalent modification of proteins by metabolites of NAD^+. Proc.Natl.Acad.Sci. USA 73, 3131-3135 (1976).

75 LAMB, D.R., J.B.PETER, R.N.JEFFRESS, H.A.WALLACE: Glycogen, hexokinase, and glycogen synthetase adaptations to exercise. Am.J.Physiol. 217, 1628-1632 (1969).

76 LARIONOV, N.P.: State of the glycolytic system in the hypertrophied heart. Vopr.Med.Khim. 24, 7-11 (1978).

77 LINZBACH, A.J.: Herzhypertrophie und kritisches Herzgewicht. Klin.Wschr. 26, 459-463 (1948).

78 LOCHNER, W.: Substratumsatz, Sauerstoffverbrauch und anaerober Energiegewinn des Herzens. Z.Kreislaufforschg. 54, 103-113 (1965).

79 LOWRY, O.H., N.J.ROSEBROUGH, A.L.FARR: Protein measurement with the folin phenol reagent. J.Biol.Chem. 193, 265-275 (1951).

80 LÜTZOW, Frhr.K.L.v.: Vergleichende anatom. und physiolog. Untersuchungen an Lauf- und Schrittpferden. Diss. Jena (1908).

81 MASTERS, C.J., M.HINKS: The regulation of lactate dehydrogenase biosynthesis during morphogenesis. Biochim.Biophys.Acta 113, 611-613 (1966).

82 MATSUOKA, S.: Studies on the lactic dehydrogenase (LDH) during development/Part 2: changes of the LDH activity and isozyme pattern in serum, heart, kidney and liver of rats during development. Acta Paed.Jap. 10, 22-27 (1968).

83 MATSUSHITA, S.: Biochemical aspects of experimental cardiac hypertrophy. Jap.Circ.J. 40, 1147-1152 (1976).

84 MC CALLISTER, B.D., A.L.BROWN: A quantitative study of myocardial mitochondria in experimental cardiac hypertrophy. Lab.Invest. 14, 692-700 (1965).

85 MEDUGORAC, I.: Subunits of myosin. Basic Res. Cardiol. 70, 467-479 (1975).

86 MEDUGORAC, I.: Bedeutung und Problematik der Reindarstellung von Myosin. Instrument u.Forschung 4, 22-30 (1975).

87 MEDUGORAC, I.: Different fractions in the normal and hypertrophied rat ventricular myocardium: An analysis of two models of hypertrophy. Basic Res.Cardiol. 71, 608-623 (1976).

88 MEDUGORAC, I.: Characteristies of the hypertrophied left ventricular myocardium in Goldblatt rats. Basic Res.Cardiol. 72, 261-267 (1977).

89 MEDUGORAC, I.: Alteration in myofibrillar ATPase activity of developing cardiac muscle in rats. Pflügers Arch. 373 (suppl.) R 15 (1978).

90 MEDUGORAC, I.: The myofibrillar ATPase activity and the substructure of myosin in the hypertrophied left ventricle of the rat. Basic Res.Cardiol. 75, 163-170 (1980).

91 MEDUGORAC, I.: Collagen content in different areas of normal and hypertrophied rat myocardium. Cardiovasc.Res. 14, 551-554 (1980).

92 MEDUGORAC, I.: Myocardial collagen in different forms of heart hypertrophy in the rat. Res.Exptl.Med.(Berlin) 177, 201-211 (1980).

93 MEDUGORAC, I., R.JACOB: Concentration and adenosinetriphosphatase activity of left ventricular actomyosin in Goldblatt rats during the compensatory stage of hypertrophy. Hoppe-Seylers Z.Physiol.Chem. 357, 1495-1503 (1976).

94 MEDUGORAC, I., A.KÄMMEREIT, R.JACOB: Einfluß eines chronischen Schwimmtrainings auf Struktur und Enzymaktivität von Myosin beim Rattenmyokard. Hoppe-Seylers Z.Physiol.Chem. 356, 1161-1171 (1975).

95 MEERSON, F.Z.: Insufficiency of hypertrophied heart. Basic Res.Cardiol. 72, 228-234 (1976).

96 MEERSON, F.Z., N.P.LARIONOV: The role of glycolysis in the energetic supply for the contractile function of hypertrophic heart. Kardiologija 9, 17-25 (1969).

97 MEERSON, F.Z., N.P.LARIONOV, V.I.KAPELKO, A.A.NURMATOV, T.F.SHEVCHENKO: On the effectiveness of utilizing energy in the hypertrophic heart. Kardiologija 11, 10-18 (1971).

98 MEERSON, F.Z., N.P.LARIONOV, N.M.KROTENKO: Dynamics of the carbohydrate metabolism in the heart muscle in the early ontogenesis. Kardiologija 15, 107-113 (1975).

99 MEERSON, F.Z., V.B.SPIRITCHEV, M.G.PSHENNIKOVA, L.V.DJACHKOVA: The role of the pentosephosphate pathway in adjustment of the heart to a high load and the development of myocardial hypertrophy. Experientia 23, 530-532 (1967).

100 MEERSON, F.Z., T.A.ZALETAYEVA, S.S.LAGUTCHEV, M.G.PSHENNIKOVA: Structure and mass of the mitochondria in the process of compensatory hyperfunction and hypertrophy of the heart. Exptl.Cell.Res. 36, 568-578 (1964).

101 MITTLETON, B.: 3-oxoacyl-coenzyme A thiolases and L-3-hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenases. Biochem.Soc.Transact. 6, 80-83 (1978).

102 MORAVEC, J.: Intracellular oxygen utilization in mechanically overloaded rat heart. Basic Res. Cardiol. 75, 193-198 (1980).

103 MORIYAMA, T., P.A.SRERE: Purification of rat heart and rat liver citrate synthases. J.Biol.Chem. 246, 3217-3223 (1971).

104 MÜLLER, W.: Temporal progress of muscle adaptation to endurance training in hind limb muscles of young rats. Cell.Tiss.Res. 156, 61-87 (1974).

105 MÜLLER, W.: Subsarcolemmal mitochondria and capillarization of soleus muscle fibers in young rats subjected to an endurance training. Cell.Tiss.Res. 174, 367-389 (1976).

106 NEUMANN, S.: Die Isoenzyme I und III der menschlichen Hexokinase (ATP:D-Hexose-6-Phosphotransferase, E.C.2.7.1.1)-Isolierung und biochemische und immunologische Eigenschaften. Diss. Bochum (1971).

107 NIE, N.H., C.H.HULL, J.G.JENKINS, K.STEINBRENNER, D.H.BENT: Statistical package for the social sciences, 2nd ed. Mc Graw-Hill, New York (1975), pp. 181-193, 267-275, 293-300.

108 NILES, N.R., L.BITENSKY, M.V.BRAIMBRIDGE, J.CHAYENN: Histochemical changes related to oxidation and phosphorylation in human heart muscle. J.Royal Microsc.Soc. 86, 159-166 (1966).

109 OKAMOTO, K., K.AOKI: Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. Jap.Circ.J. 27, 282-293 (1963).

110 OSCAI, L.B., P.A.MOLE, J.O.HOLLOSZY: Effects of exercise on cardiac weight and mitochondria in male and female rats. Am.J.Physiol. 220, 1944-1948 (1971).

111 PADYKULA, H.A.: The localization of succinic dehydrogenase in tissue sections of the rat. Am.J.Anat. 91, 107-146 (1952).

112 PALMER, L., B.KJELLBERG: Lactic dehydrogenase isoenzymes in various cell types of mouse liver. Experientia 23, 800-802 (1967).

113 PALMER, J.W., B.TANDLER, C.L.HOPPEL: Biochemical properties of subsarcolemmal and interfibrillar mitochondria isolated from rat cardiac muscle. J.Biol.Chem. 252, 8731-8739 (1977).

114 PENNEY, D.G.: LDH subunits and activity changes in hypertrophied hearts of hypoxically exposed rats. Biochim.Biophys.Acta 358, 21-24 (1974).

115 PENNEY, D.G., L.B.BUGAISKY, J.R.MIESZALA: Lactate dehydrogenase and pyruvate kinase in rat heart during sideropenic anemia. Biochim.Biophys. Acta 334, 24-30 (1974).

116 PENPARGKUL, S., J.SCHEUER: The effect of physical training upon the mechanical and metabolic performance of the rat heart. J.Clin.Invest. 49, 1859-1868 (1970).

117 PETTE, D., G.DÖLKEN: Some aspects of regulation of enzyme levels in muscle energy-supplying metabolism. Advan.Enz.Regul. 13, 355-377 (1975).

118 PODOLSKY, R.J.: The rate limiting step in muscle contraction. Basic Res.Cardiol. 75, 34-39 (1980).

119 RABINOWITZ, M.: Overview on pathogenesis of cardiac hypertrophy. Circ.Res. 34/35 (Suppl.II), 3-11 (1974).

120 RABINOWITZ, M., R.ZAK: Biochemical and cellular changes in cardiac hypertrophy. Ann.Rev.Med. 23, 245-262 (1972).

121 RABINOWITZ, M., R.ZAK: Mitochondria and cardiac hypertrophy. Circ.Res. 36, 367-376 (1975).

122 REBEL, W., TH.STEGMANN: Aktivitätsveränderungen der alkalischen Phosphatase des Herzmuskels bei tierexperimentell erzeugter Herzhypertrophie. Virchows Arch. (Abt.A: Path. Anat.) 357, 243-256 (1972).

123 REBEL, W., TH.STEGMANN: Enzym-histochemische Darstellung (SDH, LDH, Gluc-6-P-DH) von Stoffwechselveränderungen im hypertrophischen Myokard der Ratte. Virchows Arch. (Abt.A: Path.Anat.) 359, 361-372 (1973).

124 REILLY, P.J., J.D.COOKSEY: Cardiac energy stores and creatine in experimental cardiac hypertrophy. Proc.Soc.Exptl.Biol.Med. 161, 193-198 (1979).

125 REINDELL, H., H.KLEPZIG, H.STEIM, H.MUSSHOFF, H.ROSKAMM, E.SCHILDGE: Herzkreislaufkrankheiten und Sport. Barth, München (1960).

126 REVIS, N.W., A.J.V.CAMERON: The relationship between fibrosis and lactate dehydrogenase isoenzymes in the experimental hypertrophic heart of rabbits. Cardiovasc.Res. 12, 348-357 (1978).

127 REVIS, N.W., A.J.V.CAMERON: Metabolism of lipids in experimental hypertrophic hearts of rabbits. Metabolism 28, 601-613 (1979).

128 RIVEDAL, E., T.SANNER: Role of ions in the regulation of porcine lactate dehydrogenase. Biochim.Biophys.Acta 567, 60-61 (1979).

129 ROBERTSON, A.L., PH.A.KHAIRALLAH: Angiotensin II: Rabid localization in muclei of smooth and cardiac muscle. Science 172, 1138-1139 (1971).

130 ROBINSON, B.: A dissertation on the food and discharges of human bodies, London (1748). Zit. in: Bruns, O.: Welche Faktoren bestimmen die Herzgröße? Münch.Med.Wschr. 56, 1003-1007 (1909).

131 RUSSELL, D.H., K.T.SHIVERICK, B.B.HAMRELL, N.R.ALPERT: Polyamine synthesis during initial phases of stress-induced cardiac hypertrophy. Am.J.Physiol. 221, 1287-1291 (1971).

132 SACK, D.W., G.COOPER, C.E.HARRISON: The role of Ca^{++}-ions in the hypertrophied myocardium. Basic Res.Cardiol. 72, 268-273 (1977).

133 SCHEUER, J., L.KAPNER, C.A.STRINGFELLOW, C.L.ARMSTRONG, S.PENPARGKUL: Glycogen, lipid, and high energy phosphate stores in hearts from conditioned rats. J.Lab.Clin.Med. 75, 924-929 (1970).

134 SCHNEIDER, D., W.URBASZEK: Biochemisch-histochemische Befunde bei Herzhypertrophie sowie bei akuter und chronischer Herzinsuffizienz. Z.Ges.Inn.Med. 29, 133-142 (1974).

135 SIEGENTHALER, W., U.VERAGUTH, C.WERNING: Blutdruck. in: Siegenthaler, W. (Hrsg.): Klinische Pathophysiologie, 3.Aufl. Thieme, Stuttgart (1976).

136 SRERE, P.A.: Citrate synthase. in: Lowenstein, J.M. (ed.): Methods in Enzymology, Vol.XIII. Academic Press, New York (1969), pp. 3-11.

137 SRERE, P.A.: Controls of citrate synthase activity. Life Sci. 15, 1695-1710 (1974).

138 SRERE, P.A.: The enzymology of the formation and breakdown of citrate. Advan.Enzymol. 43, 57-101 (1975).

139 STYKA, P.E., D.G.PENNEY: The perinatal rat: body weight, hematocrit and regional changes in heart weight and lactate dehydrogenase isozyme composition and activity. Growth 41, 325-336 (1977).

140 SWYNGHEDAUW, B., J.J.LEGER, K.SCHWARTZ: The myosin isozyme hypothesis in chronic heart overloading. J.Mol.Cell.Cardiol. 8, 915-924 (1976).

141 TANIJIRI, H.: Cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. Jap.Heart J. 16, 174-188 (1975).

142 TOMITA, K.: Studies on myocardial protein metabolism in cardiac hypertrophy. Jap.Heart J. 7, 566-589 (1966).

143 TUBBS, P.K.: The organization of fatty acid oxidation. Biochem.Soc.Transact. 6, 68-69 (1978).

144 TUTTLE, J.P., J.E.WILSON: Rat brain hexokinase: a kinetic comparison of soluble and particulate forms. Biochim.Biophys.Acta 212, 185-188 (1970).

145 URETA, T.: Phylogeny, ontogeny, properties of the hexokinases from vertebrates. in: C.L.Markert (ed.): Isozymes III (Developmental biology). Academic Press, New York (1975), pp. 575-601.

146 UYEDA, K., E.RACKER: Regulatory mechanisms in carbohydrate metabolism. VIII. The regulatory function of phosphate in glycolysis. J.Biol.Chem. 240, 4689-4693 (1965).

147 VALADARES, J.R.E., R.L.SINGHAL, M.R.PARULEKAR, M.BEZNAK: Influence of aortic coarctation on myocardial glucose-6-phosphate dehydrogenase. Can.J.Physiol.Pharmacol. 47, 388-391 (1969).

148 VIHERT, A.M., N.M.POZDYUNINA: Changes in enzyme activity and electrolite content in the myocardium in experimental myocardial hypertrophy and insufficiency. Virchows Arch. (Abt.A: Path.Anat.) 347, 44-56 (1969).

149 WACHSMUTH, E.D., G.PFLEIDERER: Biochemische Untersuchungen an kristallinen Isozymen der Lactatdehydrogenase aus menschlichen Organen. Biochem.Z. 336, 545-556 (1963).

150 WALPURGER, G.: Cytoplasmatische und mitochondriale Enzyme in der postnatalen Entwicklung des Rattenherzens. Klin.Wschr. 45, 239-244 (1967).

151 WALPURGER, G., H.ANGER: Enzymatische Organisation des Energiestoffwechsels im Rattenherzen nach Schwimm- und Lauftraining. Z.Kreislaufforschg. 59, 438-449 (1970).

152 WEITZMAN, P.D.J., J.DANSON: Citrate synthase. Curr.Top.Cell.Regul. 10, 161-204 (1976).

153 WENDT-GALLITELLI, M.F., G.EBRECHT, R.JACOB: Morphological alterations and their functional interpretation in the hypertrophied myocardium of Goldblatt hypertensive rats. J.Mol.Cell.Cardiol. 11, 275-287 (1979).

154 WENDT-GALLITELLI, M.F., R.JACOB: Time course of electron microscopic alterations in the hypertrophied myocardium of Goldblatt rats. Basic Res.Cardiol. 72, 209-213 (1977).

155 WHEREAT, A.F., M.W.ORISHIMO: Regulation of rate of lactate oxidation by the heart. in: Dhalla, N.S.(ed.): Myocardial metabolism; recent advances in studies on cardiac structure and metabolism, Vol. 3. Urban & Schwarzenberg, München (1974), pp. 31-38.

156 WIKMAN-COFFELT, J., W.W.PARMLEY, D.T.MASON: The cardiac hypertrophy process. Circ.Res. 45, 697-707 (1979).

157 WILKERSON, J.E., E.EVONUK: Changes in cardiac and skeletal muscle myosin ATPase activities after exercise. J.Appl.Physiol. 30, 328-330 (1971).

158 WILSON, C., F.B.BYROM: Renal changes in malignant hypertension. Experimental evidence. Lancet I, 136-139 (1939).

159 WITTELS, B., R.BRESSLER: Lipid metabolism in the newborn heart. J.Clin.Invest. 44, 1639-1646 (1965).

160 WOLLENBERGER, A., B.KLEITKE, G.RAABE: Some metabolic characteristics of mitochondria from chronically overloaded, hypertrophied hearts. Exptl.Mol.Pathol. 2, 251-260 (1963).

161 WOLLENBERGER, A., G.RAABE, B.KLEITKE, W.SCHULZE: Über den Einfluß chronischer Herzüberlastung auf Struktur und Funktion der Mitochondrien des Herzmuskels. Monatsber.Dtsch.Akad.Wiss. Berlin 41, 597-600 (1961).

162 YORK, J.W., L.B.OSCAI, D.G.PENNEY: Alterations in skeletal muscle lactate dehydrogenase isozymes following exercise training. Biochem.Biophys. Res.Comm. 61, 1387-1392 (1974).

163 YORK, J.W., D.G.PENNEY, L.B.OSCAI: Effects of physical training on several glycolytic enzymes in rat heart. Biochim.Biophys.Acta 381, 22-27 (1975).

164 YORK, J.W., D.G.PENNEY, T.A.WEEKS, P.A.STAGNO: Lactate dehydrogenase changes following several cardiac hypertrophic stresses. J.Appl.Physiol. 40, 923-926 (1976).

165 ZAK, R., M.RABINOWITZ: Molecular aspects of cardiac hypertrophy. Ann.Rev.Physiol. 41, 539-552 (1979).

166 ZIMMER, H.-G., H.IBEL, E.GERLACH: Significance of the hexose monophosphate shunt in experimentally induced cardiac hypertrophy. Basic Res.Cardiol. 75, 207-213 (1980).

Herrn Privatdozent Dr. I. Medugorac gilt mein besonderer Dank. Er hat meine Arbeit stets in großzügiger Weise gefördert und mich in allen anstehenden Fragen beraten.

Danken möchte ich ebenso Herrn Dr. W. Giebel für seine zahl reichen Anregungen, insbesondere seine Hilfe bei der Einarbeitung in enzymhistochemische Techniken.

Weiterhin darf ich mich bei den Herren Professor Dr. R. Jacob (Tübingen), Dr. M.P. Boll (Darmstadt), Professor Dr. G. Pfleiderer (Stuttgart) und Dr. H. Heinle (Tübingen) für die Diskussion verschiedener Probleme bedanken. Die Herren Privatdozent Dr. Ch. Holubarsch und Dipl.-Biol. G. Ebrecht (beide Tübingen) haben ebenfalls wesentlich zum Gelingen des Unternehmens beigetragen.

Dem Personal der Computer Suite des Guy's Hospital, London, danke ich für ihre Beratung bei der Lösung statistischer Probleme.

Nicht zuletzt sei Frau K. Geckle für ihre Hilfe bei technischen Problemen aller Art gedankt, Herrn A. Seifried für seine Fotografierkünste und meiner Mutter für ihre Ausdauer bei der Schreibarbeit.

LEBENSLAUF

Am 17. Oktober 1956 wurde ich, Ulrich Helmut Köhler, als Sohn des Diplom-Mathematikers Helmut Köhler und seiner Ehefrau Margarete, geb. Meyer, in Stuttgart geboren.

Von 1963 bis 1966 besuchte ich die Grundschule und anschließend das Albert-Einstein-Gymnasium in Böblingen, wo ich am 4. Juni 1975 die Reifeprüfung bestand.

Im Wintersemester 1975/76 immatrikulierte ich mich an der Universität Tübingen für das Fach Medizin. Am 31. August 1977 bestand ich die Ärztliche Vorprüfung und am 31. August 1978 den ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, beidesmal in Reutlingen. Zwischen 1979 und 1981 war ich zeitweilig am Physiologischen Institut der Universität Tübingen (Lehrstuhl II) als Wissenschaftliche Hilfskraft angestellt.

Von Oktober 1979 bis Oktober 1980 studierte ich mit einem Stipendium der Studienstiftung des deutschen Volkes, deren Stipendiat ich von 1975 bis 1982 war, am Guy's Hospital in London klinische Medizin.
Den zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung bestand ich am 21. August 1981 in Tübingen.

Das Praktische Jahr absolvierte ich an der Neurologischen Universitätsklinik Tübingen und an den Städtischen Krankenanstalten Esslingen a. N. Dort bestand ich am 20. Oktober 1982 die Ärztliche Prüfung.